

LABORATORIUM VOOR LANDBOUWPLANTENTEELT  
DER LANDBOUWHOGESCHOOL - WAGENINGEN

ENTING VAN LUPINEN, ERWTEN EN STAMBONEN  
MET VERSCHILLENDE *RHIZOBIUM*STAMMEN;  
VELDPROEVEN

WITH A SUMMARY

INOCULATION OF YELLOW LUPINS (*LUP. LUTEUS*), PEAS (*PIS. SATIVUM*)  
AND FRENCH BEANS (*PHAS. VULGARIS*) WITH SOME *RHIZOBIUM*STRAINS;  
FIELD EXPERIMENTS

F. J. H. VAN HIELE



CENTRUM VOOR LANDBOUWPUBLIKATIES EN LANDBOUWDOCUMENTATIE

---

VERSL. LANDBOUWK. ONDERZ. No. 66,19 - WAGENINGEN - 1960

255 804

# INHOUD

	Blz.
I. INLEIDING . . . . .	1
II. ONTWIKKELING IN NEDERLAND . . . . .	2
III. HET ONDERZOEK . . . . .	4
1. Vooronderzoek en verloop in het kort . . . . .	4
2. Wijze van uitvoering . . . . .	5
3. Resultaten . . . . .	6
<i>A1. Lupine (Lupinus luteus)</i> . . . . .	7
Opbrengsten . . . . .	7
Ruw-eiwitgehalte . . . . .	9
Opmerkingen betreffende enkele proefvelden . . . . .	11
<i>A2. Serradella (Ornithopus sativus)</i> . . . . .	14
<i>B1. Erwtten (Pisum sativum)</i> . . . . .	15
Opbrengsten . . . . .	15
Ruw-eiwitgehalte . . . . .	21
<i>B2. Veldbonen (Vicia faba)</i> . . . . .	22
<i>C. Stambonen (Phaseolus vulgaris)</i> . . . . .	23
Opbrengsten . . . . .	23
Ruw-eiwitgehalte . . . . .	24
SAMENVATTING EN CONCLUSIES . . . . .	26
SUMMARY AND CONCLUSIONS . . . . .	31
LITERATUUR . . . . .	36

## I. INLEIDING

Na de ontdekking van de symbiose der Leguminosen met wortelknolletjesbacteriën scheen al spoedig de enting van vlinderbloemigen met deze bacteriën weinig problemen meer op te leveren. Het ging er slechts om het enten waar nodig in de praktijk ingang te doen vinden. Omstreeks 1930 werden er echter gegevens gepubliceerd over het bestaan van onwerkzame stammen (LÖHNIS, 1930), dat wil zeggen bacteriestammen die wel de wortel kunnen infecteren en knolletjesvorming kunnen veroorzaken, maar de plant geen stikstof leveren. Indien deze bacteriestammen andere goede stammen concurrentie aandoen bij de knolletjesvorming, kan men van parasitisme spreken.

In het buitenland werd nadien zeer veel onderzoek gedaan. Uit de zeer grote hoeveelheid literatuurgegevens, die het beeld zeer ingewikkeld maken, komt slechts langzaam een duidelijk patroon te voorschijn. Het bleek dat de afzonderlijke uitwerking van enting met verscheidene bacteriestammen – behorend tot een der bekende groepen – bij een bepaald gewas toch sterk kon verschillen. Met andere woorden de bacteriestammen kunnen in werkzaamheid verschillen en wel in de mate van N-binding, tot uiting komend in de mate van voordeel voor de plant.

De werkzaamheid wordt bepaald door combinaties van vele factoren, zoals agressiviteit (concurrentievermogen met andere stammen), infecterend vermogen, N-bindend vermogen, de toestand van de grond (fysisch en chemisch) en van de plant (C/N-verhouding), concurrentievermogen met andere micro-organismen in de grond, erfelijke eigenschappen van de plant ten opzichte van bepaalde bacteriestammen. Het behoeft daarom geen verwondering te wekken dat de gegevens van proeven zeer uiteenlopen. Ook in Nederland is men gaan onderzoeken of de beschikbare entstoffen verbeterd konden worden en of in het algemeen meer profijt van enting getrokken kon worden, ook in gevallen waarin een gewas werd verbouwd op een grond die dit gewas reeds eerder had gedragen. Een weergave van de bovengeschetste ontwikkeling en van de huidige pogingen geven GERRETSEN (1950), HARMSSEN (1953, 1954) en VAN SCHREVEN (1954).

De gegevens van buitenlandse onderzoeken dreigden soms de bekende groepenindeling (cross inoculation groups) van *Rhizobium*bacteriën aan te tasten. Zo bleken sommige *Rhizobium*stammen van klaver bij erwten knolletjes te kunnen vormen en omgekeerd. (KLECZKOWSKA, NUTMAN en BOND, 1944; BJÄLFVE (schriftelijke mededeling); *Nutrition of the Legumes*, 1958 (JENSEN p. 75 e.v.). In geen van deze gevallen bleek echter de waardplant profijt te hebben van de zo gevormde knolletjes. Een groot opgezet onderzoek van JOHNSON en ALLEN (1952) met *Rhizobia* van de verschillende groepen toonde aan dat er geen aanleiding is om het systeem der groepenindeling te verlaten, zodat voldoende houvast blijft bestaan.

Gewezen kan nog worden op de publikaties van THORNTON (1935, 1945, 1954), waarin deze de stand van het onderzoek weergeeft en op het beknopte literatuuroverzicht van GEORLETTE (1953) en op *Nutrition of the legumes* (1958), waarin de verschillende hoofdstukken een zeer volledig overzicht geven van de huidige kennis.

Voor de praktijk heeft men nog weinig van de nieuw verworven kennis bruikbaar kunnen maken.

## II. ONTWIKKELING IN NEDERLAND

Begin 1951 vond er een bespreking plaats van deskundigen om aan het onderzoek verder richting te geven. VAN SCHREVEN gaf ervaringen weer voor de uitzonderlijke gronden der nieuwe Zuiderzeepolders: in latere jaren behoefde voor klaver, erwten, veldbonen en in het algemeen ook voor stambonen niet meer geënt te worden, wel voor lupinen, serradella, luzerne en hopperupsklaver. Door de goede kalktoestand is één maal enten meestal voldoende. (In Zweden en Engeland moet op zure gronden ieder jaar geënt worden.) In 1954 deelde HARMSSEN mee dat op laagveengronden in Friesland de middelmatige en slechte stammen voor klaver bleken te overheersen. Op genoemde bijeenkomst rapporteerde GERRETSEN dat op 11 van de 13 over het gehele land verspreid liggende proefvelden met lupinen, erwten, klaver e.d. met enting niets bereikt was. Op één lupineproefveld werd een zwak effect bereikt, evenzo op één luzerneproefveld bij één van de twee rassen.

In België had inmiddels MANIL (1951, 1953) een zeer goede stam voor luzerne gevonden, die vrijwel overal belangrijke opbrengstverhogingen gaf. Een selectie op *Rhizobium*stammen voor klaver leverde geen verschillen in effectiviteit op.

Te zelfder tijd rapporteerden VERVELDE en WIERSMA (1951) (Laboratorium voor Landbouwplantenteelt) en LAMBERTS (1951) over enkele entingsproeven met verschillende bacteriestammen bij lupinen en erwten. De resultaten waren duidelijk positief wat betreft het aanslaan van de verschillende bacteriestammen, tot uiting komend in betrouwbare opbrengstverschillen. De opbrengsten waren echter overwegend negatief ten opzichte van niet enten. In de gunstige gevallen werd het controle-object geëvenaard (Voor een in 1950 uitgevoerde proef met sojabonen en verschillende *Rhizobium*stammen, op een grond waar vaker soja was verbouwd, waren de conclusies eensluidend). Bij de voederlupinen werd bij enting met een Finse stam door een hoger ruw eiwitgehalte één keer een hogere ruw-eiwitopbrengst bereikt. De zaad-stroverhouding bij erwten daalde bij een tendenz tot meer strovorming. Aldus kan een stikstofeffect positief werken ten opzichte van de groei in plantmassa en negatief ten opzichte van de zaadopbrengst, een bekend effect indien zonder stikstofbemesting of enting een behoorlijke groei mogelijk is.

Evenmin als de stammen in de lupineproef van LAMBERTS gaven andere in het buitenland geselecteerde stammen in oriënterende proeven betere resultaten dan de in ons land beschikbare stammen die niet speciaal geselecteerd waren (HARMSSEN, 1953).

Na de oriënterende proeven door Groningen en Wageningen werd tot een taakverdeling besloten. In Groningen zou Dr. HARMSSEN zich meer concentreren op de enting van klaver, hetwelk overgenomen werd van het voormalige Centraal Instituut voor Landbouwkundig Onderzoek en op de enting van luzerne. In Wageningen zou Dr. WIERINGA, later ook Mevr. Ir. BAKHUIS van het Laboratorium voor Microbiologie zich belasten met de selectie van bacteriestammen voor lupinen en erwten. De Afdeling Landbouwplantenteelt zou de uitvoering der veldproeven verzorgen.<sup>1</sup> Inmiddels waren voor het onderzoek M.S.A.-fondsen ter beschikking gekomen.

<sup>1</sup> Dit geschiedde tenslotte onder leiding van schrijver dezes, bijgestaan door de technisch assistent R. B. MARTENS.

Met nadruk wil schrijver erop wijzen dat de proeven een oriënterend karakter bleven en moesten behouden, gezien de beschikbaar gestelde termijn in jaren (drie à vier) voor afsluiting van het onderzoek en de per jaar beschikbare tijd.

Over de enting van lupinen en erwten met verschillende *Rhizobium*stammen was nog weinig onderzoek verricht, vooral wat betreft de eventuele invloed van het ras op de werking der *Rhizobium*stammen.

Moeilijkheden met de bacteriestammen voor lupine op het Laboratorium voor Microbiologie en de ontwikkeling van deze kant van het onderzoek enerzijds en anderzijds beperkte mogelijkheden voor het aantal proefvelden dat vanuit Wageningen verzorgd kon worden, het uitblijven van duidelijke effecten in de eerste twee jaar, dwongen tot steeds meer beperking. De ontmoete problemen zouden op langere termijn stellig leiden tot diepergaand onderzoek op zeer beperkte schaal, waarbij bodemanalyses en bemesting een grote rol zouden moeten spelen.

### III. HET ONDERZOEK

#### 1. VOORONDERZOEK EN VERLOOP IN HET KORT

Alvorens veldproeven konden worden aangelegd, diende eerst een strenge selectie op het verzamelde sortiment van bacteriestammen te worden uitgevoerd. HARMSSEN (1954) berichtte over de hierbij toe te passen systemen en WIERINGA en BAKHUIS (1957) berichtten over een door WIERINGA ontworpen geheel nieuw systeem waarmee beschikbare *Rhizobium* stammen voor erwten snel geselecteerd kunnen worden op effectiviteit. Daar deze methode eerst ontwikkeld moest worden, kon er voor de hier gerapporteerde proeven nog niet het volle profijt van worden getrokken. Enige niet effectieve stammen konden echter snel onderscheiden worden.

Het vooronderzoek met de stammen voor lupinen leverde moeilijkheden op. De werkzame stammen bleken op een voedingsbodem steeds trage groeiers te zijn. Een stammentsortiment was door HARMSSEN op serradella (buizencultures) getoetst en door WIERINGA op lupinen met potcultures. HARMSSEN vond een groot aantal werkzame stammen; WIERINGA een kleiner aantal, maar deze bleken alle bij serradella ook werkzaam te zijn hetgeen de resultaten ondersteunde.

Na de voorselectie kon in 1954 begonnen worden met de veldproeven met drie buitenlandse bacteriestammen en één Wageningse stam. In 1955 werden ook entingsproefvelden met erwten aangelegd, vanaf 1957 ook met stambonen. In 1958 werd het onderzoek voorlopig afgesloten.

Een enquête onder de consultants leverde geen positieve aanwijzingen op over het mislukken van vlinderbloemige gewassen door het nalaten van enting, noch incidenteel, noch voor een streek of grondsoort.

Er werden toen velden aangelegd op nieuwe ontginningsgronden in Drente en de Peel, op löss (nieuw voor lupinen) en op goede lupinezandgrond te Haalen en Wageningen.

In 1954 en 1955 werden drie rassen uitgezaaid, namelijk *Neven* en *Weiko III* (wit-zadig) en een bitter landras, in 1955 vervangen door *Jorlupine*. Aangezien de factor lupinerassen de resultaten onduidelijk maakte, is in 1956 en 1957 maar één ras (*Jorlupine*) uitgezaaid. In 1957 werd ook een lichte stikstofgift toegepast.

Ook bij erwten is vanaf 1956 maar één ras (*Rondo*) gezaaid. De erwtenvelden lagen op oude en nieuwe gronden (ook ontginningen) op zand- en op kleigrond. Op schrale nieuwe grond werd vanaf 1957 naast de gebruikelijke basisbemesting ook al of niet stikstof gegeven.

Vanaf 1955 is steeds op de zandgronden een bemesting gegeven met Sporumix om vooral in de molybdeenbehoefte der bacteriën te voorzien, ook op kleigrond waar dit wenselijk leek, hetgeen een eenvoudig onderzoek op het Laboratorium voor Microbiologie kon uitmaken.

Dat in een aantal gevallen kans was op aanwezigheid in de grond van *Rhizobium* stammen was geen bezwaar. Uit de proeven van VERVELDE en WIERSMA (1951) en LAMBERTS (1951) was immers al gebleken dat de stam in de grond goed beconcurrereerd kan worden door enting van het zaad. Alleen moet de stam waarmee geënt wordt,

beter zijn. Zeer wenselijk is het om bij dergelijke proeven vooraf te weten in hoeverre de aanwezige stam(men) goed of slecht is (zijn). Dit vooronderzoek kon echter nog niet op grote schaal aangepakt worden. Het reeds vermelde systeem om stammen snel op effectiviteit te toetsen, is hiervoor ook bruikbaar. Voor een behoorlijke zekerheid zou men in de zomer van verschillende velden erwte- of lupineplanten moeten verzamelen, uit de knolletjes hiervan de bacteriën isoleren om hiermee de toetsplanten te enten. Het volgende jaar kan men dan van de resultaten profiteren. Een bezwaar is dat dan op het bemonsterde perceel liefst geen erwten of lupinen worden verbouwd.

Wil men proefpercelen van het volgende jaar op stammen onderzoeken, dan zal men eerst op het laboratorium op grondmonsters planten moeten kweken, de bacteriën uit de knolletjes hiervan isoleren en hiermee de toets uitvoeren volgens het systeem. Dit maakt het vooronderzoek weer langer. Voor een praktisch onderzoek of enting resultaat kan hebben, is het direct inzetten van potproeven met de betreffende grond hiervoor toch nog de beste en snelste methode met de plantmassa als kwantitatieve maatstaf. Dit zou bij bemonstering van veel percelen of grondsoorten het werk echter weer te omvangrijk maken. Inmiddels is gebleken dat ook goede aanwijzingen verkregen kunnen worden, althans met erwten, door het kweken op buizen met voedingsoplossing, waaraan enkele grammen grond zijn toegevoegd.

Een voordeel is dat het al of niet aanwezig zijn van slechte stammen niet aan een perceel gebonden zal zijn, maar meer aan een bepaalde grondsoort, zoals HARMSSEN (1954) voor klaverstammen al aantoonde. Dit opent meer perspectieven.

## 2. WIJZE VAN UITVOERING

1. Alle zorg werd besteed aan de enting van het zaad, hetgeen op het Laboratorium voor Microbiologie uit petrischaalculturen geschiedde in gelijkmatige hoeveelheden.
2. Ontsmetting van het zaad was uiteraard niet mogelijk. Waarschijnlijk is dit nog wel eens nadelig geweest. Combinatie van enting en ontsmetting of „zaadbescherming” is een onderzoek op zichzelf. Gunstige perspectieven openen zich echter. (MIYASAKA en SILVA, 1935; RUHLOFF en BURTON, 1951).
3. Het geënte zaad bleef nooit langer dan twee dagen boven de grond, waarbij het koel bewaard werd. Bewaarproefjes door BAKHUIS uitgevoerd op het Laboratorium voor Microbiologie toonden aan dat dit in ieder geval toelaatbaar is zonder de bacteriën te schaden. Enting op het veld kost te veel tijd.
4. Het niet geënte zaad werd met een gelijkwaardige hoeveelheid water bevochtigd. Deze hoeveelheid was zeer gering.
5. Voor de grootte der veldjes en het aantal herhalingen kan verwezen worden naar de BIJLAGEN 1 en 2, kolom 6-9.
6. De eerste velden werden met de hand gezaaid. Op zandgrond vergroot dit de kans op verstuiwing door het vele lopen, het dichtharken enz. Later werd met de hand-zaaimachine gezaaid, waarbij echter te onregelmatige hoeveelheden gezaaid werden, vooral indien meer mensen met verschillende machientjes werkten. Achteraf is echter gebleken dat dit de uitkomsten niet beïnvloed kan hebben. In 1956 is toch weer tot zaaien met de hand overgegaan.

Technisch is het eenvoudiger om per man één *Rhizobium*stam te laten zaaien, maar dit blijkt het risico mede te brengen dat opbrengstverschillen door verschil in zaaimethode, meer of minder slordig zaaien en toedekken, gekoppeld worden aan eventuele opbrengstverschillen door de entingen. Beter is het om per man één herhaling te laten zaaien (bij alle veldproeven aan te bevelen), waarbij echter bij toepassing van verschillende reinculturen vaker de handen ontsmet moeten worden.

7. Ruimte tussen de vakjes is noodzakelijk, maar het inzaaien van randrijen is later achterwege gelaten, hetgeen de oogst zeer vergemakkelijkt en versnelt. De randeffecten kunnen overal even sterk werken, zodat de opbrengstverhoudingen hierdoor niet beïnvloed worden.

8. Hoewel in de aanvang sterk met het besmettingsgevaar rekening werd gehouden bij het lopen over het veld en de bewerking ervan, was dit bij nader inzien minder belangrijk. In de meeste gevallen waren er al *Rhizobium*bacteriën in de grond, zodat er op de nulveldjes toch al knolletjes gevormd werden. Bovendien ligt het geënte zaad door grond bedekt en de entstof blijft de beste kansen behouden voor primaire infectie, ook al zou de grond vanaf naburige veldjes door lopen, regen of bewerking iets besmet worden.

9. In de praktijk zullen ook lupinen in vele gevallen om de zaadopbrengst verbouwd worden, maar bij oriënterende proeven waarbij verschillen niet of nauwelijks zichtbaar zijn, is het, evenals bij erwten, aan te bevelen het gewas groen te oogsten. Vooral bij lupinen geeft het winnen van zaad grote risico's, waarmee men inlichtingen over de reactie van het gewas op de entingen kan verliezen. Van de in het voorjaar gezaaide lupinen is echter toch zaad geoogst. In 1956 werd te Beekbergen de helft groen geoogst, van de andere helft had de zaadopbrengst in de natte herfst, ondanks pogingen om het loof dood te spuiten, veel te lijden. In het natte jaar 1954 was de zaadoogst eveneens vrijwel mislukt door verschimmeling (proef te Emmercompascum op dalgrond).

Van de erwtenproeven zijn er vele groen geoogst, temeer daar dit bij soms 170 vakjes per veld veel eenvoudiger was dan het winnen van zaad.

### 3. RESULTATEN

In totaal werden van 1954 tot 1958 34 proefvelden aangelegd, met ruim 2600 vakjes en een gezamenlijk oppervlak van ruim 3 ha.

Het is niet mogelijk hier alle proefvelden in details te bespreken. De BIJLAGEN 1 en 2 geven een overzicht van de belangrijkste gegevens voor de lupine- en de erwte- en stamboomproefvelden: grondsoort, pH, het al of niet nieuw zijn voor het gewas en de uitslag van de variantieanalyse<sup>1</sup>, benevens de standaardafwijking in procenten van het gemiddelde der proef.

<sup>1</sup> De variantie-analyse geeft met de F-toets aan of de verschillen tussen behandelingen of entingen, inbegrepen de controle (niet geënt 0), statistisch van betekenis zijn. Met de t-toets (Student's) is nagegaan of het verschil tussen het gemiddelde van enting met de verschillende stammen ( $\bar{e}$ ) en niet geënt (0) van betekenis is.



A1. Lupine (*Lupinus luteus*)

**Opbrengsten.** Van de 16 proefvelden kon van 13 de opbrengst aan zaad of groene massa bepaald worden. Indien het gewas bij teelt als stoppelgewas groen werd geoogst, werd het droge-stofgehalte bepaald en hiermee de droge-stofopbrengsten, benevens de ruw-eiwitopbrengsten. De variantie-analyse (F-toets) wees slechts in vier gevallen op het bestaan van significante verschillen door enting met verschillende bacteriestammen. In een dezer gevallen, Emmercompascuum 1954, betrof het echter een vrijwel mislukte zaadopbrengst van  $\pm 250$  kg per ha; het gewas was te geil en de herfst te nat voor een goede oogst. De variantie-analyse leverde echter significantie op voor enten (F-toets  $p < 0,05$ ), met gemiddeld een positief zwak significant effect ten opzichte van niet enten (t-toets) (zie TABEL 1).

TABEL 1 Zaadopbrengst van lupinen in kg per ha, gemiddeld over drie lupinerassen

Proefveld <i>Exp. field</i>	Controle <i>Control</i>	Geënt met <i>Rhizobium</i> stam - inoculated with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van enting $\bar{e}$ <i>Average of strains <math>\bar{e}</math></i>	D 0,05 <sup>1</sup>	
							Objecten <sup>2</sup> <i>Treatments</i> <sup>2</sup>	$\bar{e}-0^3$
a. Emmercompas- cum '54 . . . . .	0	K17	K82	K91	T			
	202	294	179	296	277	262	89	70
	0	Lyngby	K82	Uppsala	T			
Beekbergen '56 (één ras - one va- riety) . . . . .	372	480	514	532	466	498	145 <sup>4</sup>	115
b. Haelen 1 '55 . . Wageningen '55 . Stadskanaal '55 .	0	Lyngby	K82	K804	BlGr			
	1561	1689	1532	1667	1623	1628	288 <sup>4</sup>	228
	1798	1701	1828	1621	1644	1698	285 <sup>4</sup>	225
	2508	2586	2342	2475	2437	2460	213 <sup>4</sup>	168
	Gem. - av.	1956	1992	1901	1921	1901	1929	

<sup>1</sup> D 0,05 =  $t_{v,0,05} S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$  = kleinste betrouwbare verschil - L.S.D.

<sup>2</sup> Entingen, niet geënt (0) medegerekend - inoculations, control included.

<sup>3</sup>  $e-0$  = Gemiddelde van entingen en niet geënt - average of strains and control.

<sup>4</sup> Geen significante verschillen volgens de F-toets voor entingen, controle inbegrepen. In this case the analysis of variance (F-test) for inoculations or „treatments“ (control included) indicated no influence.

TABLE 1 *Lupins*. Seed yield in kg per hectare, averages of three varieties

In TABEL 1 is ook de zaadopbrengst van Beekbergen 1956 vermeld. Deze proef gaf eveneens een positief en significant effect van de enting, maar zonder significantie in de F-toets. Het gemiddelde entingseffect was bij de twee andere velden met significante F-toets, waar het eveneens zaadopbrengsten betrof, ongeveer gelijk aan dat van niet enten (Haelen 2) of hoger dan niet enten (Veenhuizen 2). Voor Beekbergen '56 gold dat, hoewel de opbrengst aan ruw eiwit van het loof een goede significantie (F) vertoonde tussen entingen, de gemiddelde opbrengst bij enten ongeveer gelijk was aan niet enten.

Op de overige negen velden was het gemiddelde entingseffect in vijf gevallen nog zwak positief ten opzichte van niet enten; in de andere vier gevallen negatief of gelijk aan niet enten.

Aan deze vergelijkingen mag echter statistisch geen waarde gehecht worden. Indien het gemiddelde der entingen lager was dan niet geënt, waren het toch vaak één of meer stammen die hogere opbrengsten gaven dan niet geënt, wat niet verwonderlijk is. Van een duidelijk overheersen van een der bacteriestammen bij de lupinerassen of op de proefvelden was echter geen sprake (zie Tabellen 1 en 2).

TABEL 2 Lupinen. Ruw eiwitopbrengst van het loof in kg per ha gemiddeld over 3 lupinerassen

Proefveld <i>Exp. field</i>	Controle <i>Control</i>	Geënt met <i>Rhizobium</i> stam – inoculated with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van enting $\bar{x}$ <i>Average of strains <math>\bar{x}</math></i>	D 0,05 <sup>2</sup>	
							Objecten <sup>3</sup> <i>Treatments<sup>2</sup></i>	$\bar{x}-0^3$
	0	K17	K82	K91	T			
Mantinge 2 '54 . . .	291	259	290	283	286	280	71 <sup>4</sup>	56
Wageningen 1 '54 . .	429	440	434	418	454	436	46 <sup>4</sup>	36
Venhorst . . . . .	498	517	509	539	510	519	51 <sup>4</sup>	40
Beek . . . . .	438	399	424	416	382	405	81 <sup>4</sup>	64
Gem. – av. . . . .	414	404	414	414	408	410		
	0	Lyngby	K82	Uppsala	T			
Beekbergen '56 (één lupineras – one va- riety) . . . . .	731	622	838	688	719	717	144	114

<sup>1, 2, 3, 4</sup> Zie TABEL 1 - see TABLE 1.

TABEL 2 Lupins. Yield in kg per ha of crude protein from the foliage (green harvest); average of three varieties

Op één na waren de verstrekte stammen in de jaren niet steeds dezelfde. Hoewel de omstandigheden van ras en grondsoort de werkzaamheid der stammen wellicht beïnvloed kunnen hebben, moeten wij zeer sceptisch blijven tegenover eventuele verschillen waarvoor de variantie-analyse trouwens genoeg waarschuwt. De verstrekte stammen behoorden immers in het algemeen tot die groep waarvan men de beste indruk had verkregen, hoewel zij op het laboratorium niet zo streng getoetst konden worden op onderlinge verschillen als later met de erwtenstammen mogelijk was.

Overzien wij alle proeven, dan is door de variantie-analyse nergens een werkelijk bevredigend positief entingseffect in de opbrengsten aangetoond. In de enkele gevallen van een significante entingsinvloed was het opbrengstniveau abnormaal laag of traden in de cijfers verschillen op die niet te verklaren zijn. Deze algemene conclusie is in overeenstemming met het feit dat invloed van enting op het veld nooit duidelijk zichtbaar was, ook niet op voor lupine volkomen nieuwe gronden.

In drie gevallen, waar de enting gemiddeld over verschillende stammen geen significante opbrengstverhoging gaf, werd wel een significante interactie gevonden tussen entingen en lupinerassen. De combinaties lupineras en bacteriestam, die de hoogste of de laagste opbrengsten gaven, waren echter steeds weer anders en volkomen willekeurig. Daar de vertolking der uitkomsten door toepassing van meer lupinerassen zeer bemoeilijkt werd, is vanaf 1956 met één ras doorgewerkt en met meer herhalingen.

Op een schrale zandgrond van een nieuwe bosontginning (Beekbergen) kwam in 1956, door een

duidelijke opbrengstvermeerdering in de groene massa met één der stammen (K82) en een opbrengst-reductie door een Zweedse stam, een zeer significante werking voor entingen ( $p < 0,01$ ) aan de dag. Bij de zeer lage zaadopbrengsten van parallelle veldjes die op een latere datum werden geoogst, kwam een positief effect naar voren, echter van *alle* stammen.

Op de twee velden te Veenhuizen werd in 1957 stikstofbemesting gegeven. De reactie op deze bemesting was duidelijk te zien (FIG. 1) en wel vrij gelijkmatig bij alle entings-objecten. Maar in de zaadopbrengsten kon het stikstofeffect niet met significantie aangetoond worden. De verklaring hiervoor kan liggen in het grotere risico aan het oogsten van zaad verbonden en in de kans op een lagere zaad/stro-verhouding door een stikstofgift.

FIG. 1 Lupinen, 1957. Veenhuizen 2, 2e jaar van de ontginning, ras *Jorlupine*; geen reactie op entingen, wel op stikstof (zie banen overdwars)



FIG. 1 *Lupins, 1957. Veenhuizen 2, variety Jorlupin on an acid 2 years old peat-reclamation soil; no reaction on inoculation, reaction on nitrogen (see strips across)*

Hoewel de F-toets bij één van deze proeven (Veenhuizen 2) nog een invloed van enting aanwees ( $p < 0,05$ ), is het beeld zeer onduidelijk (zie TABEL 3).

Opvallend, maar wellicht toevallig, is dat er op beide velden bij enting met de stam K82 geen reactie op stikstof is, maar bij enting met de praktijkentstof BIGr een sterk positieve reactie optreedt. In de tweede proef krijgt dit effect echter toch statistische betekenis, gezien de interactie enting  $\times$  stikstof ( $p < 0,05$ ). Een goede reactie op stikstof bij een onwerkzame stam is verklaarbaar.

Ten opzichte van niet geënt is de praktijkentstof bij geen stikstof dan ook niet werkzaam. De invloed van K82 bij geen stikstof vertoont ten opzichte van niet enten een positieve en een negatieve tendens. Deze tendensen zijn echter niet betrouwbaar.

**Ruw-eiwitgehalte.** Bij zes velden werd het ruw-eiwitgehalte in de droge-stof van het loof bepaald. In dit gegeven zouden de verschillende entingen zich beter kunnen uiten, minder gestoord als zij worden door de grote toevalsspreiding van de opbrengsten in verband met dit weinig oogstzekere gewas en de nieuwe gronden. Deze veronder-

stelling wordt gesteund door de ervaring dat het eiwitpercentage bij de rassen zeer regelmatig verschild (TABEL 4).

TABEL 3 Zaadopbrengst van lupinen in kg per ha op nieuwe veenontginningsgrond

Proefveld Exp. field Veenhuizen 1957	Kg N per ha	Controle Control	Geënt met <i>Rhizobium</i> stam – inoculated with <i>Rhizobium</i> strain			Gem. $\bar{x}$ Average $\bar{x}$	Objecten <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>	$\bar{x}-0^3$
		0	K82	BLGr				
				D 0,10				
1	0	1945	2231	1852		2042	660	568
	60	2246	2177	2402		2290	660	568
	Gem. Av.	2095	2204	2127		2166	466 <sup>4</sup>	402
				D 0,05				
2	0	1748	1528	1657		1592	353	306
	60	1572	1562	2146		1854	353	306
	Gem. Av.	1560	1545	1901		1723	250	216

<sup>2, 3, 4</sup> Zie TABEL 1 – see TABLE 1.

TABEL 3 *Lupins. Seed yield in kg per ha on a recent acid peat-reclamation soil*

TABEL 4 Het percentage ruw eiwit in de droge stof van lupineloof; gemiddelde van vijf velden in 1954

Lupineras Variety	Controle Control	Geënt met <i>Rhizobium</i> stam – inoculated with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van entingen $\bar{x}$ Average of strains $\bar{x}$
	0	K17	K82	K91	T	
Weiko III . . . . .	20,5	21,3	21,3	21,3	21,1	21,2
Neven . . . . .	21,8	21,8	22,0	22,5	21,3	21,9
Landras (bitter) . .	23,5	23,5	23,9	23,5	23,4	23,6

TABEL 4 *Lupins. The percentage of crude protein in the dry matter of the foliage (green harvest); average of five fields in 1954*

TABEL 5 Het percentage ruw eiwit in de droge stof van lupineloof; gemiddelde van drie lupinerassen

Proefveld Exp. field	Controle Control	Geënt met <i>Rhizobium</i> stam – inoculated with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van enting $\bar{x}$ Av. of strains $\bar{x}$	D 0,10	
	0	K17	K82	K91	T		Objecten <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>	$\bar{x}-0^3$
Mantinge 1 '54 . .	16,9	18,2	17,7	19,4	18,6	18,5	1,5	1,2
Mantinge 2 '54 . .	23,1	22,8	24,7	23,5	23,8	23,7	1,6 <sup>4</sup>	1,3
Venhorst '54 . .	24,3	24,4	25,4	24,9	24,3	24,8	1,0 <sup>4</sup>	0,8
Wageningen 1 '54	25,5	25,3	24,9	24,8	25,1	25,0 <sup>oo</sup>	1,0 <sup>4</sup>	0,8
Beek '54 . . . . .	19,8	18,8	19,1	19,7	18,7	19,1 <sup>oo</sup>	0,8	0,7
		Lyngby	K82	Uppsala	T			
Beekbergen '56 <sup>o</sup>	17,5	17,2	18,1	18,1	17,9	17,8	0,6	0,5

<sup>o</sup> Eén ras – one variety. <sup>oo</sup> Betere grond – better soil.

<sup>2, 3, 4</sup> Zie TABEL 1 – see TABLE 1.

TABEL 5 *Lupins. The percentage of crude protein in the dry matter of the foliage; average of three varieties*

Bij vier velden werd gemiddeld over de entingen een hoger gehalte gevonden ten opzichte van niet geënt en wel op de nieuwe gronden (TABEL 5).

Slechts bij één van deze velden was er enige significantie ( $p < 0,10$ ), nl. Mantinge 1. Op wat betere grond was op twee velden het gehalte gemiddeld over entingen lager, voor Beek met enige significantie ( $p < 0,10$ ). Duidelijke, blijvende verschillen tussen de bacteriestammen kwamen in deze niet tot uiting. Evenmin betekende een hoger gehalte ook een hogere opbrengst aan ruw eiwit.

*Opmerkingen betreffende enkele proefvelden.* In 1937 werd te Veenhuizen overgegaan tot het beproeven van een stikstofgift, omdat in 1956 het gewas op deze grond mislukt was (FIG. 2a en b). De knolletjesvorming was toen zeer slecht, ook bij geënte veldjes. Wel liep er een baan door het proefveld (waarschijnlijk een oud wagenspoor) waar de planten goed stonden zowel bij geënt als niet geënt. De mislukking is wellicht te wijten aan een stof die in nieuwe heideontginningsgrond vaak voorkomt en die de bacteriën inactieveert. Na een jaar is deze stof door uitspoeling wel verdwenen (HARMSEN, 1958). Een andere aannemelijke verklaring kan een te lage pH geweest zijn ( $\pm 4,2$ ). Er was geen kalkbemesting gegeven. In ieder geval was de groei bij potproeven met deze grond ook zeer slecht.

Op voor lupine nieuwe lössgrond ondervindt men in het eerste jaar meestal moeilijkheden met de aanslag der enting. Dit was ook de ervaring met de proef te Beek, uitgezaaid begin augustus. Na een zeer goede beginontwikkeling viel de stand later tegen. Naar schatting vertoonde slechts één op de tien planten knolletjes. Geënt of niet geënt had geen invloed op dit beeld, evenmin als de rassen. Soms liepen scherpe scheidingen tussen plekken met goede en met slechte planten. Geheel goede en geheel slechte plek-

FIG. 2a Lupinen 1956. Veenhuizen, 1e jaar van ontginning, ras *Jorlupine*, randrijen *Weiko*; geen effect van enting, slechte stand



FIG. 2a Lupins 1956. Veenhuizen, first year of the peat reclamation, variety *Jorlupine*, borderrows *Weiko*; no reaction on inoculation, bad crop

FIG. 2b *Jorlupine*-geënt tussen *Weiko*-niet geënt (De lichte kleur van *Weiko* is een raseigenschap)



FIG. 2b *Variety Jorlupin* – inoculated between *Weiko* – not inoculated (The light colour of *Weiko* is a variety characteristic)

ken kwamen voor. De grond oefende hier een onbekende invloed uit. Het tweede jaar gaat het in het algemeen beter volgens mondelinge mededeling van de hoofdassistent ZEGUERS, maar voor stoppelteelt kan men in het eerste jaar al goede resultaten hebben, als serradella is gezaaid onder het graangewas.

Veldproeven van het Rijkslandbouwconsulentschap te Roermond in 1950, die door nachtvorst niet geoogst werden, vertoonden een goede reactie op een Zweedse bacteriestam en een nog betere op enting met grond, terwijl de praktijkentstof Groningen zich bijna niet onderscheidde van ongeënt. Na herisolatie van de Zweedse stam (zonder absolute zekerheid, daar identificatie niet mogelijk is), werd deze door ons in 1955 op een veld (Haalen 2) voor enting gebruikt. Er was een negatieve tendens ook ten opzichte van de andere stammen en niet geënt.

Op oude dalgrond (Stadskanaal 1955) zagen wij dezelfde verschijnselen als die op de lössgrond. Het betrof eveneens een voor lupine nieuwe grond, echter in goede cultuurtoestand. Ook hier vertoonde zich het ongelijkmatige voorkomen van goede en slechte planten, resp. al of niet met knolletjes en onafhankelijk van wel of niet enten. De bacteriën kunnen wellicht pleksgewijze niet gedijen, waardoor de bacteriën van het veld niet in voldoende mate voorkomen en de bacteriën van de entstof ook geen gelijkmatige aanslag geven. Aangezien de pH voldoende hoog was, kunnen wij geen verklaring geven.

In Beekbergen 1956 werd gezaaid op een pas ontgonnen bosperceel (grindzandgrond). Het gewas vertoonde een duidelijke reactie op de grondgesteldheid. Naar achteren in het proefveld liep de grond omhoog, waarbij de stand zeer slecht werd, zodat enige herhalingen niet geoogst konden worden. Door BAKHUIS werd op het Laboratorium

voor Microbiologie de pH gemeten en een potproef ingezet met grondmonsters, die in de lengte van het veld genomen waren. Daar waar in het veld scherpe overgangen zichtbaar waren (FIG. 3a, b en c) bleek de pH gedaald te zijn tot beneden 4,5. Volgens LAMBERTS (1952) is dit de laagste pH die lupinen verdragen.

FIG. 3a Lupinen, 1956. Beekbergen, ras *Jorlupine*; weinig reactie op entingen, sterke reactie op grondverschillen (pH). (Zie FIG. 3b en c)

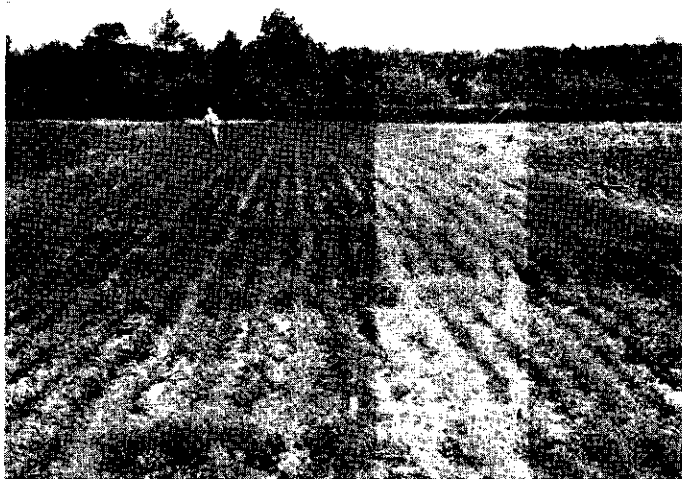


FIG. 3a *Lupins, 1956. Beekbergen, variety Jorlupin; recent forest-reclamation soil, gravelly sand; little reaction on inoculations, much reaction on pH (see FIG. 3b and c)*

FIG. 3b Als 3a: slechte stand bij pH 4,3

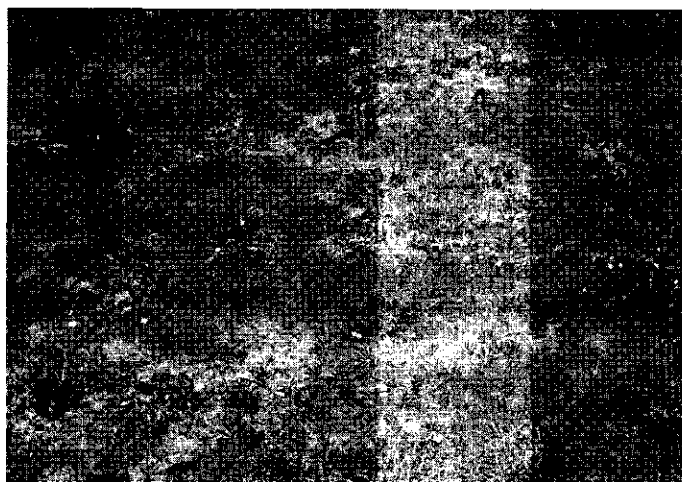


FIG. 3b *The same as 3a: bad growth at pH 4,3*

FIG. 3c Als 3a: betere stand bij pH 4,8

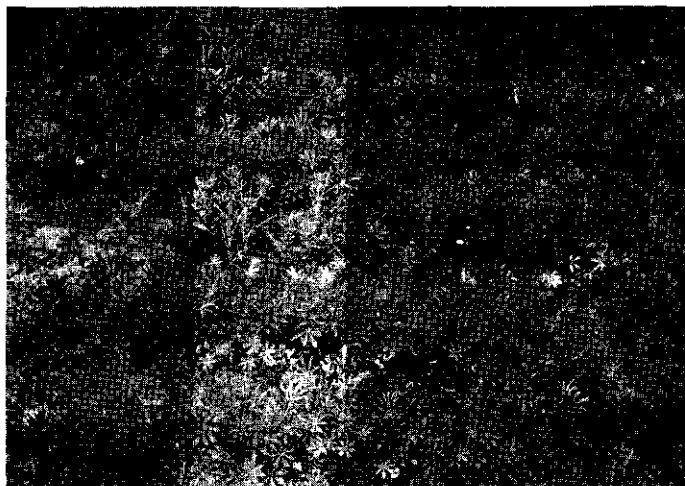


FIG. 3c The same as 3a: better growth at pH 4,8

In Mantinge werd in 1954 lupine als eerste gewas gezaaid op een nieuwe hoge heide-ontginningsgrond. Het perceel was onder andere met 50 ton/ha V.A.M. compost bemest. Knolletjes werden ook op de niet geënte veldjes aangetroffen. In verband met het risico van kruisbestuiving voor het omliggende praktijkperceel, moest het proefveld ontijdig gemaaid worden. Uit de oogst konden nog monsters genomen worden waarin het ruw-eiwitgehalte bepaald werd. Zowel deze cijfers als die van de tweede proef die kort na de eerste werd ingezaaid (TABEL 5), wezen op een hoger ruw-eiwitgehalte door enting. Bij de tweede proef was desondanks de eiwitopbrengst na enting niet hoger.

Ook op de heide-ontginningsgrond te Venhorst bleek enting een wat hoger eiwitgehalte op te leveren; de ruw-eiwitopbrengsten waren echter niet significant hoger.

In 1954 werd te Emmercompascum op oude dalgrond, waar nog nooit lupine had gestaan, eveneens een proef aangelegd. Op niet geënte veldjes waren ruimschoots knolletjes aanwezig. Door de zeer vochtige grond en de natte nazomer groeide het gewas zeer geil en bleef doorbloeien. In oktober is het doodgespoten. Het resultaat was matig. Op de ruiters is een deel van de toch al zeer geringe zaadopbrengst verschimmeld. De opbrengsten toonden echter toch een significante positieve invloed aan van enting ( $p < 0,05$ ). Onverklaarbaar is evenwel de lage opbrengst van de veldjes die met een der stammen (K82) waren geënt. Deze stam had op de overige velden nooit een dergelijk slecht resultaat te zien gegeven.

## A2. Serradella (*Ornithopus sativus*)

Voor de drie niet in BIJLAGE 1 vermelde velden met serradella waren dezelfde bacteriestammen als voor lupinen bruikbaar. Wegens ongelijkmatige stand en veel onkruid



werd er slechts één geoogst. Op geen der velden was een entingseffect zichtbaar. Voor het wel geoogste veld lag de gemiddelde opbrengst bij enten weer lager dan bij niet enten. De variantie-analyse leverde geen significant entingseffect op; wel was er een significante interactie tussen enting en rassen. Het ene serradella-ras zou dus andere bacteriestammen vragen dan het andere ras.

#### B1. Erwten (*Pisum sativum*)

*Opbrengsten* Van 12 proefvelden kon van tien het verse loof of het zaad geoogst worden. De variantie-analyse voor opbrengsten wees volgens de F-toets bij acht van deze velden op het bestaan van significante verschillen door enting met verschillende stammen (BIJLAGE 2). Hoewel alleen op zeer schrale grond op het veld duidelijke verschillen zichtbaar waren, moet de enting toch ook op de betere gronden meestal wel zijn aangeslagen. De erwten die groeiden op niet geënte veldjes op de betere gronden hadden steeds knolletjes, ook als er nooit erwten waren verbouwd. Zijn er dus significante verschillen tussen niet geënte en geënte veldjes, dan moet de enting niet alleen aangeslagen zijn, maar ook moet de geënte stam in de concurrentie met de in de grond aanwezige stam(men) geslaagd zijn. Slechts bij vier van de genoemde acht velden lag echter het gemiddelde der entingen hoger – en met significantie – dan bij niet enten. Op de overige vier en op de velden waar volgens de F-toets geen significantie gevonden werd, lag dit gemiddelde lager.

Bij twee van de vier velden waar een significante, positieve invloed van enting gevonden werd – t-toets voor ( $\bar{e} - 0$ ) – waren de omstandigheden echter zeer gunstig voor het slagen van enting, nl. de velden Veenhuizen 1957 en 1958, waar het een nieuwe zeer schrale veenontginningsgrond betrof. Door afwezigheid van *Rhizobium*bacteriën en door toediening van een tijdige bekalking en een basisbemesting met thomasslakkenmeel en patentkali, waren hier voorwaarden aanwezig die vergelijkbaar waren met die van de potproeven op het Laboratorium voor Microbiologie. Er waren zeer duidelijke zichtbare verschillen (FIG. 4a), die evenals de opbrengsten (TABEL 6) dezelfde rangorde der bacteriestammen als op het laboratorium aangaven.

Een als ineffectief gekenmerkte stam (waarschijnlijk van Finse herkomst) bevestigde dit karakter duidelijk en gaf zelfs lagere opbrengsten dan bij niet geënte veldjes (FIG. 4b).

In 1956 werd voor het eerst een proefveld op deze grond aangelegd. Er werd een voorjaarsbekalking toegepast, naast fosfaat- en kalibemesting, maar nog geen stikstoftrap ingelast. De stand was zeer slecht, maar er was wel een goed zichtbare reactie op enting (FIG. 5). Het gewas verkommerde echter, zodat oogsten geen zin had. In 1957 was, waarschijnlijk door de herfstbekalking, de stand zonder stikstofgift zoveel beter dat oogsten voor het onderzoek wel zin had.

Een stikstofgift verbeterde de opbrengsten duidelijk (significantie  $p < 0,01$ ), althans in 1957.

In 1958 bleef op het veld waarop het vorige jaar lupinen gestaan hadden dezelfde rangorde aanwezig, nu in de droge stof en de ruw-eiwitopbrengsten van het loof, met weer een negatieve uitwerking van de ineffectieve stam en een positieve van de anderen.

FIG. 4a Ervten, 1957. Veenhuizen, ras *Rondo*; vooraan: met stikstof, van links naar rechts: geënt met P8, PF<sub>2</sub>, controle en PRE.  
2e baan: zonder stikstof, PRE, BLGr, controle, P8, PF<sub>2</sub>.



FIG. 4a Peas on a new peat-reclamation soil. 1957. Veenhuizen, variety *Rondo*; front strip: with nitrogen; from left to right: inoculated with P8, PF<sub>2</sub>, control and PRE.  
second strip: without nitrogen, PRE, BLGr, control, P8, PF<sub>2</sub>.

FIG. 4b Zie 4a. Midden links: geënt met PF<sub>2</sub>, rechts: met de ineffektieve stam P8; beiden zonder stikstof



FIG. 4b See 4a. In the middle, left side: inoculated with PF<sub>2</sub>, to the right: inoculated with the ineffective strain P8; both without nitrogen

TABEL 6 Erwten (*Rondo*) op een nieuwe veenontginning (Veenhuizen)

	N kg per hectare	Controle Control	Enting met <i>Rhizobium</i> stam - inoculation with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van av. of PRE BLGr, PF <sub>2</sub>	Objecten <sup>2</sup> Treatments <sup>2</sup>	PRE + BL + PF <sub>2</sub>	0
		0	PR <sup>o</sup>	PRE	BLGr <sup>oo</sup>	PF <sub>2</sub>			3	
D 0,01										
1 - 1957 - Kg zaad	0	1345	912	2038	1521	2733	2097	717	583	
(seed) per ha	60	3091	1745	4580	3108	4400	4029	717	583	
Gem. - Av.		2218	1328	3309	2314	3566	3063	507	412	
D 0,05										
2 - 1958 - Kg ruw	0	430	416		429	554	492	99	86	
eiwit van het loof	60	400	286		403	492	447	99	86	
per ha - crude pro- tein of the foliage in in kg per hectare										
Gem. - Av.		415	351		416	522	469	70	61	
D 0,05										
% Ruw eiwit -	0	16,8	17,0		16,5	16,1	16,3	0,5	0,4	
crude protein	60	16,1	16,0		16,2	16,4	16,3	0,5	0,4	
Gem. - Av.		16,4	16,5		16,4	16,3	16,3	0,3 <sup>4</sup>	0,3	

<sup>o</sup> Ineffectieve stam, uitgesloten van het gemiddelde van entingen - ineffective strain, excluded from the average of the strains.

<sup>oo</sup> Entstof voor de praktijk in Nederland - inoculation material for farmers in the Netherlands.

<sup>2, 4</sup> Zie TABEL 1 - see TABLE 1.

TABEL 6 *Pisum sativum*, Blue pea (*Rondo*) on a recent peat-reclamation soil (Veenhuizen).

FIG. 5 Erwten, 1956. Veenhuizen, 1e jaar van de ontginning, ras *Rondo*.

links: ongeënt. midden: niet geënte randrij van Koroza rozijnnerwten.

rechts: geënt met stam PF<sub>2</sub>.



FIG. 5 Peas, 1956. Veenhuizen, first year of a recent peat reclamation, variety *Rondo*.

left: not inoculated. middle: a borderrow of Koroza - maple pea for human consumption.

right: inoculated with strain PF<sub>2</sub>.

Een beoordeling van het gewas zowel op kleur als op lengte, resulteerde in eenzelfde rangorde voor geënt tegenover ongeënt als bij de opbrengsten. Nemen wij de gemiddelden van de veldjes die wel en die geen stikstof hebben gehad, dan vertonen de opbrengsten van de geënte veldjes grote overeenkomst met de opbrengsten van de veldjes in 1957. In 1958 was er echter een negatieve reactie op de stikstofgift met enige significantie ( $p < 0,10$ ) en er zijn over het geheel minder sterke verschillen dan in 1957. Het negatieve stikstofeffect lijkt zeer onwaarschijnlijk.

Oorzaken van dit negatieve effect zouden kunnen zijn:

1. De N-concentratie was te groot voor het zaad, hoewel dit breedwerpig gestrooid is. Het aantal open plaatsen was wel wat hoger op de N-veldjes, maar betekenis kan hieraan niet gehecht worden.
2. De stikstof heeft de onkruidgroei zo bevorderd dat dit ten koste ging van de erwteplanten. De onkruidbezetting heeft wel een hoge graad bereikt, maar verschil tussen de vakken met en zonder N is niet opgemerkt.
3. Mede door de voorvrucht lupine is het N-niveau door de N-gift te hoog geworden. Op deze arme grond is dit zeer onwaarschijnlijk, vooral gezien de zeer gunstige werking van N in 1957 op een plaats die direct aan het proefveld van 1958 grensde. Zou het N-niveau te hoog geweest zijn, dan zou juist een hogere loofopbrengst verkregen zijn met eventueel een lagere zaadopbrengst.
4. De systematische verdeling van de veldjes met en zonder stikstof is verkeerd genoteerd. Deze mogelijkheid moet echter uitgesloten worden geacht.

De daling van het ruw-eiwitgehalte door de N-bemesting is niet zo onverklaarbaar. Indien door de knolletjesbacteriën of door een stikstofgift de loofgroei gestimuleerd wordt, behoeft dit niet samen te gaan met een hoger ruw-eiwitgehalte; een iets lager gehalte is zelfs denkbaar. Bovendien hangt het gehalte aan ruw eiwit van het groeistadium af. Een daling van het gehalte aan ruw eiwit door stikstofbemesting is in 1958 ook geconstateerd in het zaad van stambonen, maar dit was in tegenstelling met de gehalten in het jaar daarvoor.

De in Veenhuizen zo effectief gebleken stammen waren in 1956 op betere grond (lichte kleigrond, waar al eerder erwten verbouwd waren) niet in staat opbrengstverhogingen te geven (TABEL 7). Het significant bevonden negatieve entingseffect ( $p < 0,01$ ) moet berusten op enige zeer lage opbrengsten.

In 1957 op kleigrond, bij hoge opbrengsten aan totaal droge stof (door betere stand en late oogstdatum), was er overwegend een positieve tendens ( $p < 0,10$ ) met merkwaardigerwijze de in Veenhuizen inefficiënte stam (P8) als één der beste. Wanneer de in de grond aanwezige stammen superieur geweest waren, zou een eventueel gering concurrentievermogen van P8 met deze stammen deze positieve tendens misschien hebben kunnen verklaren. Het betrof echter juist velden waarvan de aanwezige stammen, blijkens het vooronderzoek op het Laboratorium voor Microbiologie, minder goed waren dan die waarmee geënt zou worden.

Er zijn moeilijk conclusies te trekken uit de resultaten van de toepassing van verschillende stammen. De geringe significantie in 1957 en het verschil in rangorde van de stammen in dat jaar op de twee velden op de zeelei wijzen dat wel duidelijk aan. Uit de velden in 1955, 1956 en 1957 blijkt wel dat positieve resultaten met enting op wat betere grond zeer schaars zijn en dat deze resultaten dan nog gering zijn.

TABEL 7 Erwtten (*Rondo*) op lichte zeeklei (zavel); droge-stofopbrengst van het groene loof + peulen in kg per ha

Proefveld <i>Exp. field</i>	Controle <i>Control</i>	Enting met <i>Rhizobium</i> stam - <i>inoculation</i> with <i>Rhizobium</i> strain					Gem. van 4 entingen $\bar{x}$ <i>Av. of 4</i> strains $\bar{x}$	Objecten <sup>2</sup> <i>Treatments</i> <sup>2</sup>	$\bar{x}$ -0 <sup>3</sup>	
		0	P8	Z9	PRE	PF <sub>2</sub>				BE10
1956									D 0,01	
Kloosterburen 1	3890	—	3254	3758	3567	4140	3680	510	403	
Kloosterburen 2	3104	—	2788	2217	2979	3055	2760	361	285	
									D 0,10	
% ruw eiwit - <i>crude</i> <i>protein</i>										
Kloosterburen 1	24,3	—	24,2	23,7	25,0	24,1	24,2	0,9 <sup>4</sup>	0,7	
Kloosterburen 2	20,0	—	19,5	20,3	19,9	19,7	19,8	0,8 <sup>4</sup>	0,6	
									BLGr <sup>oo</sup>	D 0,10
1957										
Kloosterburen	5156	5610	5138	5542	5562	—	5463	382	302	
Niekerk	7592	8050	8414	7736	7982	—	8046	544	430	

<sup>oo</sup> Zie TABEL 6 - see TABLE 6.

<sup>2</sup>, <sup>3</sup>, <sup>4</sup> Zie TABEL 1 - see TABLE 1.

TABEL 7 *Peas (Rondo) on young sea clay; yield in kg dry matter per hectare of green foliage with pods*

In 1955 was er een *Rhizobium*stam (S313) van Zweedse herkomst, die op ieder van de vier velden gemiddeld over vier erwterassen tamelijk ongunstig afstak tegenover de andere stammen (TABEL 8). Hier hebben wij wellicht met een minder effectieve stam te maken. Het vooronderzoek wees trouwens in dezelfde richting. Op deze velden was het entingseffect, ook van de andere stammen, echter overwegend negatief en het gemiddelde van de entingen steeds negatief, voor Wageningen met significantie ( $p < 0,05$ ). TABEL 9A demonstreert dit nog eens duidelijk: behalve bij *Big Ben* in Mantinge en Kruisland is het gemiddelde van de entingen per ras op ieder veld steeds lager dan bij ongeënt. Binnen de rassen en entingen per veld waren wel wat meer uitzonderingen.

Bij twee van deze vier velden, die te Wageningen en Kruisland, waren er zwak significante verschillen ( $p < 0,10$ ) tussen de entingen (niet geënt inbegrepen), zonder significantie voor de interactie enting  $\times$  ras. Bij Wageningen zijn alle entingseffecten duidelijk negatief; bij Kruisland kan alleen S313 de significantie veroorzaakt hebben.

Voor de twee andere velden, Mantinge en Venhorst, is geen significantie gevonden tussen entingen, maar wel voor de interactie tussen ras en enting resp. voor  $p = 0,10$  en  $p < 0,01$ . De genoemde minder effectieve stam kan deze interactie niet veroorzaakt hebben.

Duidelijk is de interactie overigens niet. Als bepaalde combinaties van erwteras en bacteriestam betekenis mochten hebben, dan is dat voor elk veld toch weer anders. Wel mag er wellicht op gewezen worden dat het gemiddelde effect van enting bij *Big Ben* op de velden met deze interactie hoger is dan, resp. vrijwel gelijk is aan ongeënt, zulks in tegenstelling met de andere rassen. Voor Venhorst moet S313 hierbij uitgezonderd worden. Ook voor Kruisland is bij *Big Ben* geënt gemiddeld hoger dan ongeënt (zie boven), mits S313 wordt uitgezonderd; significantie werd voor een interactie evenwel niet bereikt.

TABEL 8 Ruw-eiwitopbrengsten in kg per ha gemiddeld over vier erwtenrassen op vier velden

Proefveld <i>Exp. field</i>	Controle <i>Control</i>	Enting met <i>Rhizobium</i> stam – inoculation with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van entingen $\bar{x}$ <i>Average of strains <math>\bar{x}</math></i>	$\bar{x}-0^3$
	0	P1	P26	S313	P4		
Loof – <i>foliage</i>							D 0,05
1. Mantinge . . . . .	294	290	300	283	272	286	32 <sup>4</sup>
2. Kruisland . . . . .	670	693	712	575	668	662	82
3. Wageningen . . . . .	389	361	264	280	307	303	74
Gem. van 1, 2 en 3 . . .	451	448	426	380	416	418	
<i>Av. of 1, 2 and 3</i>							
Zaad – <i>seed</i>							
4. Venhorst . . . . .	611	592	575	515	599	570	148 <sup>4</sup>

<sup>3, 4</sup> Zie TABEL 1 – see TABLE 1.

TABLE 8 Peas 1955, yields in kg per ha of crude protein on four fields, averages of four varieties

TABEL 9 Erwten 1955. Ruw-eiwitopbrengsten in kg per ha (A) en het percentage ruw eiwit (B) bij niet enten (0) en gemiddeld over enting met vier *Rhizobium*stammen (+)

Proefveld: <i>Exp. field:</i>	Kg ruw-eiwit van het loof – kg of crude protein of the foliage (green harvest)								Kg ruw eiwit v.h. zaad Kg crude protein of seed	
	1. Mantinge		2. Kruisland		3. Wageningen		Gem. – Averages		4. Venhorst	
Erwtenras <sup>o</sup> – Variety <sup>o</sup>	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+
A										
Vares . . . . .	323	294	743	716	493	322	520	447	796	726
Koroza . . . . .	245	236	606	581	283	270	378	362	521	464
Big Ben . . . . .	287	305	676	724	421	336	458	455	628	623
Clauserva . . . . .	332	310	653	628	360	276	448	404	500	468
Gem. – Av. . . . .	294	286	670	662	389	303	451	418	611	570
D 0,05 . . . . .	32		82		74		148			
B										
Vares . . . . .	17,5	16,8	19,8	19,3	20,5	20,0	19,3	18,7	26,0	25,3
Koroza . . . . .	16,3	16,5	19,0	18,6	17,4	18,7	17,6	17,9	26,9	25,3
Big Ben . . . . .	16,1	16,4	18,4	18,9	18,8	19,2	17,8	18,2	26,1	25,0
Clauserva . . . . .	18,9	18,8	23,1	22,2	19,7	18,6	20,6	19,9	26,0	26,2
Gem. – Av. . . . .	17,2	17,1	20,1	19,8	19,1	19,1	18,8	18,7	26,2	25,4
D 0,05	0,5		1,0		1,0		1,6			

<sup>o</sup> Vares: ronde groene erwt – *Blue pea*.

Koroza: rozijn erwt – *Maple pea for human consumption*.

Big Ben: schokker – *Marrowfat*.

Clauserva: doperwt – *Green pea for canning*.

TABLE 9 Peas 1955. A. Yields in kg per ha of crude protein for four varieties on four fields by non inoculated (0) and averaged over four *Rhizobium* strains (+) and B. The same for the percentage of crude protein in dry matter.

*Ruw-eiwitgehalte.* Bij zes velden werd van het loof en bij één veld van het zaad het ruw-eiwitgehalte bepaald. De invloed van het veld, samengaan met een verschil in groeistadium (en dus in één geval het verschil zaad ten opzichte van loof), kwam duidelijk uit, evenals een verschil tussen de rassen (TABEL 9B). Verschil tussen de bacteriestammen was er in dit opzicht niet. De ineffektieve stam P8 (Veenhuizen 1957 en 1958) en de stam waarbij op de vier velden in 1955 duidelijk lagere opbrengsten waren aangetroffen, vielen niet op door een bijzonder laag en ook niet door een hoog ruw eiwitgehalte van het loof (zie TABEL 6 en 10). De in TABEL 8 voor ruw-eiwit-

TABEL 10 Ruw-eiwitpercentages gemiddeld over vier erwtenrassen op vier velden (Zie ook TABELLEN 6 en 7)

Proefveld <i>Exp. field</i>	Controle <i>Control</i>	Enting met <i>Rhizobium</i> stam - inoculation with <i>Rhizobium</i> strain				Gem. van entingen $\bar{x}$ <i>Average of strains <math>\bar{x}</math></i>	$\bar{x}-0^3$
	0	P1	P26	S313	P4		
% ruw-eiwit in droge stof van groen loof - % <i>crude protein in dry matter of foliage harvested green</i>							D 0,05
1. Mantinge . .	17,2	17,1	17,0	17,0	17,2	17,1	0,5 <sup>4</sup>
2. Kruisland . .	20,1	20,2	20,0	19,3	19,7	19,8	1,0 <sup>4</sup>
3. Wageningen	19,1	19,4	17,9	20,5	18,7	19,1	1,0
Gem. - <i>Av.</i>	18,8	18,9	18,3	18,9	18,5	18,7	
% ruw-eiwit van het zaad - % <i>crude protein in the seed</i>							
4. Venhorst . .	26,2	25,6	26,0	25,3	24,9	25,4	1,4 <sup>4</sup>

<sup>3, 4</sup> Zie TABEL 1 - see TABLE 1.

TABEL 10 Peas 1955, percentage of crude protein on four fields, averages of four varieties (see also TABLES 6 and 7)

opbrengsten aanwijsbaar ongunstige invloed van stam S313 was dus in de drogestof-opbrengsten ook aanwezig. Per veld gemiddeld over de rassen, lag het gemiddelde gehalte van de geënte veldjes steeds iets lager of gelijk aan niet enten (TABEL 10). De verschillen zijn echter zeer gering. Betreft men ook Venhorst (zaad!) bij de resultaten, dan lag het gemiddelde gehalte van „entingen” per ras gemiddeld over alle velden eveneens steeds lager dan van niet enten.

Van deze velden is de variantie-analyse voor de ruw-eiwitopbrengsten uitgevoerd. Aangezien het ruw-eiwitgehalte geen enkele duidelijke aanwijzing opleverde omtrent een specifieke werking van de *Rhizobium*stammen, was het patroon van de drogestofopbrengsten niet belangrijk gewijzigd door de omrekening tot ruw-eiwitopbrengsten.

B2. Veldbonen (*Vicia faba*)

Er werd één proef met veldbonen uitgevoerd waarvoor dezelfde bacteriestammen als voor erwten gebruikt konden worden (TABEL 11). De variantie-analyse wees geen invloed van de entingen aan. Het gemiddelde entingseffect was lager dan bij niet enten. Het heeft weinig zin dit te wijten aan het feit dat het gescheurd grasland betrof, daar de veldjes zonder enting ook niet erg goed stonden; de enting heeft stellig geen overmaat aan stikstof veroorzaakt.

TABEL 11 Veldbonen (*Vicia faba*). Zaadopbrengst in kg per ha van vier rassen, geënt met drie stammen van *Rhiz. leguminosarum*. Wageningen 1955

Ras <sup>o</sup> - variety <sup>o</sup>	Controle Control	Enting met <i>Rhizobium</i> stam - inoculation with <i>Rhizobium</i> strain			Gem. van entingen Average of strains
	0	P1	P26	S313	
Ezetha's Witkiem .	2870	1930	1980	2230	2050
Mazagan . . . . .	2050	1720	1990	2200	1970
Niki . . . . .	3920	2650	2770	3140	2850
Wierboon C.B. . . .	4480	3770	4020	4120	3970
Witkiem . . . . .	2050	2150	2170	1850	2060
Gem. - Av. . . . .	3070	2440	2590	2710	2580 (ē)
D 0,05 . . . . .	1210 <sup>oo</sup>		1500 <sup>oo</sup> , 4		

<sup>o</sup> Ezetha's Witkiem: Waalse boon - *Broad bean*.

Mazagan: Waalse boon - *Broad bean*.

Niki: duiveboon - *Pigeon bean*.

Wierboon C.B. - *small seeded Broad bean*.

Witkiem: Waalse boon - *Broad bean*.

<sup>oo</sup> Kleinste betrouwbare verschil (k.b.v.) voor entingen (controle inbegrepen), gemiddeld over de rassen - *L.S.D. for inoculations (control included) averaged over varieties*.

<sup>ooo</sup> k.b.v. voor 0 - ē - *L.S.D. for control to average of strains averaged over varieties*.

Zie TABEL 1 - see TABLE 1.

TABEL 11 *Vicia faba* on river-basin clay. Seed yield in kg per ha of four varieties inoculated with three strains of *Rhiz. leguminosarum*. Wageningen 1955.

De in 1955 bij de erwten minst effectieve stam (S313) was hier het meest effectief; gemiddeld over de herhalingen gaf deze bij vier van de vijf rassen de hoogste opbrengst van de drie entingen, maar hier mag volgens de variantie-analyse geen statistische betrouwbaarheid aan gehecht worden. De opbrengst bleef echter ook hier als bij de erwten in 1955 steeds onder die van niet enten.

Aangezien deze stam zich bij erwten op verschillende grondsoorten vrij uniform gedroeg, moet de hier geconstateerde verandering, zo deze al betekenis heeft, het gevolg zijn van de betere symbiose van een bacteriestam met een van erwten vrij sterk afwijkend gewas. Overigens was de rangorde van de drie stammen bij de vier rassen precies gelijk.



C. Stambonen (*Phaseolus vulgaris*)

Vanaf 1957 konden ook enkele stammen van *Rhizobium phaseoli* beproefd worden (zie BIJLAGE 2 en TABEL 12). Dit is op bescheiden schaal geschied. In 1957 en in 1958 werd een proefveld aangelegd op een hoge grindrijke zandgrond waar nog nooit stambonen waren verbouwd. Op naburige percelen was dit wel het geval geweest; wortelknolletjes kwamen daar echter maar sporadisch voor.

Er werd tevens een stikstofgift gegeven op 8 van de 16 herhalingen.

TABEL 12 Stambonen (*Phaseolus vulgaris* var. *nanus*) geënt met verschillende stammen van *Rhizobium phaseoli*. Zaadopbrengst in kg per ha en ruw-eiwitpercentage van het zaad. Wagningen, hoge iets leemhoudende grind-zandgrond. Ras Beka.

	Kg N per ha	Controle Control 0	<i>Rhizobium</i> stam Wag. Hoog <sup>o</sup>	<i>Rhizobium</i> strain BiGr <sup>oo</sup>	<i>Rhizobium</i> strain Zijlma	<i>Rhizobium</i> strain Bokum	Gem. van entingen $\bar{x}$ Average of strains $\bar{x}$	Objecten <sup>o</sup> Treatments <sup>o</sup>	$\bar{x}$ -0 <sup>o</sup>
1957									
Zaad - seed	0	2390	-	2250	2580	2710	2510	240	200
	40	2480	-	2560	2610	2680	2620	240	200
	Gem. - Av.	2440	-	2400	2600	2700	2570	170	140
D 0,05									
% Ruw eiwit - crude protein	0	21,1	-	20,8	21,9	22,2	21,6	0,63	0,52
	40	21,7	-	21,8	22,1	22,2	22,0	0,63	0,52
	Gem. - Av.	21,4	-	21,3	22,0	22,2	21,8	0,45	0,36
D 0,01									
1958									
Zaad - seed	0	1830	1960	2400	-	2530	2290	540	440
	40	2320	2430	2160	-	2810	2460	540	440
	Gem. - Av.	2070	2190	2280	-	2670	2380	380	310
D 0,05									
% Ruw eiwit - crude protein	0	21,8	21,4	22,1	-	21,9	21,8	0,64	0,52
	40	20,9	21,3	21,2	-	22,2	21,6	0,64	0,52
	Gem. - Av.	21,4	21,4	21,7	-	22,0	21,7	0,45	0,37
D 0,05									
1957									
% slecht zaad - inferior seed	0	32,2	-	26,4	25,2	27,1	26,2	7,5	6,1
	40	22,5	-	22,8	21,6	24,7	23,0	7,5	6,1
	Gem. - Av.	27,4	-	24,6	23,4	25,9	24,6	5,3	4,3

<sup>°</sup> Stam geïsoleerd uit het terrein waarin het proefveld gelegen was - strain obtained from the terrain in which the exp. field was situated.

<sup>°°</sup> Entstof voor de praktijk in Nederland - inoculation material for farmers in the Netherlands.

<sup>°, °</sup> Zie TABEL 1 - see TABLE 1.

TABEL 12 French beans on gravelly sand soil. Seed yield in kg per ha and percentage of crude protein in seed.

*Opbrengsten.* In 1957 was de stand goed met wel een zichtbare reactie op stikstof, maar zonder zichtbaar verschil tussen de entingen. Het effect van bemesting in de zaadopbrengst was echter statistisch niet significant, doch dat van de entingen was zeer significant ( $p < 0,01$ ). De interactie tussen enting en bemesting was niet significant.

In 1958 was er na een trage beginontwikkeling door droogte en koude een goede

reactie op stikstof, die ook significante verschillen gaf. Het effect van de entingen was wederom zeer significant ( $p < 0,01$ ), terwijl thans een zwakke significantie voor de interactie tussen enting en bemesting werd gevonden.

In beide jaren was het gemiddelde van entingen bij zowel niet als wel stikstof hoger dan bij niet enten. In beide jaren bleek dezelfde bacteriestam (Bokum) bij wel en niet stikstof duidelijk de beste te zijn, het eerste jaar evenwel slechts weinig beter dan een stam van dezelfde herkomst. Een uit het perceel van inzaai geïsoleerde stam (Wageningen-Hoog), waarmede het tweede jaar geënt werd, gaf iets betere resultaten dan zonder enting. Door het combineren van stikstofbemesting en enting werd de werking van beide factoren verzwakt, vooral bij de goede stammen en in 1958, toen de stikstof beter werkte dan in 1957.

Een aanwijzing in 1957 dat niet geënt en de minder effectieve praktijkentstof sterker op stikstof zouden reageren bereikte geen significantie. In 1958 was er wel een zwakke significantie voor deze interactie, maar dit werd waarschijnlijk veroorzaakt door een negatief reageren op stikstof bij de praktijkentstof, terwijl hier minstens een even grote positieve reactie verwacht kon worden als bij de andere entingen.

*Ruw-eiwitgehalte.* Van het zaad van deze proeven werd ook het ruw-eiwitgehalte bepaald. De aanwijzingen die de variantie-analyse hiervoor opleverde, waren nog positiever (zie TABEL 12). In 1957 werd grote significantie gevonden voor entingen en voor bemesting en goede significantie voor de interactie enting  $\times$  bemesting. Het entings-effect hield enige verhoging in van het gehalte, behalve bij de praktijkentstof (BLGr), die ook de opbrengst vrijwel niet beïnvloedde. Het bemestingseffect betekende ook een verhoging, terwijl de interactie zichtbaar is in een sterke verhoging van het gehalte door stikstof bij niet geënt en de praktijkentstof en vrijwel geen reactie bij de goede stammen, die wel grote opbrengstverhogingen gegeven hadden. Dit is volkomen plausibel en bovendien statistisch betrouwbaar.

Opvallend is voor de proef van 1957 hoe de verschillen tussen de ruw-eiwitpercentages vrijwel parallel lopen met de zaadopbrengsten. In de ruw-eiwitopbrengsten zouden dus de effecten versterkt uitkomen. Weergave hiervan kon ons inziens echter achterwege blijven.

In 1958 werd voor enting goede, voor N-bemesting zwakke en voor interactie goede significantie gevonden. Het bemestingseffect komt nu neer op een zwakke verlaging van het gehalte door N-bemesting. Gezien de ervaringen met het ruweiwitgehalte bij lupinen en erwten lijkt hier een lager gehalte niet onmogelijk. De significantie is echter zwak.

Voor de significant bevonden interactie moet men bemesting en entingen beschouwen. Bij niet geënt en BLGr. (praktijkentstof) is er een vrij sterke daling van het gehalte door N-bemesting (in tegenstelling met 1957) terwijl er een gering verschil is bij de zeer goede stam Bokum en bij de uit het veld geïsoleerde stam Wageningen-Hoog. Gezien de opbrengsten heeft BLGr. in 1958 wel enige invloed gehad, meer dan in 1957 en kan „Wageningen-Hoog” niet als een goede stam beschouwd worden. Afgezien van de negatief ingestelde reactie op stikstof, is het zo niet mogelijk verband te leggen tussen twee paar entingsobjecten in 1958 met de twee paar in 1957. Voor de in

beide jaren significant bevonden interactie is zo geen plausibele overeenstemmende verklaring te geven. Aldus is er vrij veel dat in 1958 afwijkt van 1957, vooral wat het ruw-eiwitgehalte betreft. In de opbrengsten uit zich voor beide jaren echter zeer duidelijk de stam Bokum, die in 1957 geëvenaard werd door de stam Zijlma, die uit hetzelfde gebied afkomstig is.

Evenals bij een praktijkveld op dezelfde grond, was het resultaat van de praktijk-entstof nihil, zodat deze wellicht vervangen kan worden door de goede stam. Hoewel het hier slechts om twee proeven gaat, werden goede resultaten bereikt wat betreft positieve reactie op enting en verschillen tussen de bacteriestammen.

Indien stikstof gegeven wordt, is de kans op een grote opbrengstverhoging door enting geringer, zeker bij hogere giften, waarvan enkele praktijkresultaten blijken geven. Zonder stikstof kan door enting een flinke opbrengstverhoging bereikt worden, welke die van een matige stikstofgift overtreffen kan. Het ziet er naar uit dat een lage N-gift de met enten verkregen opbrengst kan verhogen. De N-behoefte tijdens de jeugd-ontwikkeling zal hierbij een rol spelen. De samenwerking tussen N-niveau van de grond, grootte en tijdstip van de N-gift, enting en weersomstandigheden, vormt nog een uitgebreid terrein voor verder onderzoek. Dat de juiste bacteriestam van grote betekenis is, blijkt voldoende uit de cijfers.

Dat de enting slaagde op een grond waar met lupine geen enkel resultaat werd behaald, moet worden toegeschreven aan de kleine populatie van werkzame *Rhizobium*-stammen voor bonen die men in de regel kan vinden (THORNTON, 1935). De uit het perceel geïsoleerde stam bleek weinig actief te zijn. Dat deze bij enten een iets beter resultaat gaf dan bij niet enten, kan aan het enten zelf liggen, met andere woorden de kans op infectie van de wortels was groter en daardoor kan de vorming van wortelknolletjes beter geweest zijn.

Het zaad van 1957 werd gesorteerd in goed en slecht. De percentages „slecht” duiden op een verbetering van de kwaliteit, zowel door enting (alleen indien geen stikstof gegeven is) als door stikstofbemesting. Alleen voor het bemestingseffect was er enige significantie ( $p < 0,10$ ). Een zwak negatief verband met het ruw-eiwitgehalte is misschien aanwezig. Gezien het zeer lage % slecht zaad in 1958 had sorteren hierbij geen zin.

## SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Op voor de betreffende gewassen overwegend nieuwe gronden werd de reactie van verschillende rassen van lupinen, serradella, erwten en veldbonen en van een ras stambonen op enting van het zaad met verschillende geselecteerde *Rhizobium* stammen nagegaan.

Hierover is in Nederland nog betrekkelijk weinig onderzoek gedaan. Een voorlopige oriëntatie was het doel van het onderzoek. Het hier weergegeven onderzoek heeft alleen betrekking op de proefvelden. Het onderzoek betreffende de selectie en toetsing der stammen en de bereiding van de entstof geschiedde op het Laboratorium voor Microbiologie (WIERINGA en BAKHUIS).

De als weinig oogstzeker bekend staande gewassen en de noodzaak tot overwegend gebruik van nieuwe gronden hebben ondanks alle aandacht voor de proefveldtechnische zijde van het onderzoek een grote toevalsspreiding in de opbrengsten veroorzaakt. Door de grote standaardafwijkingen was er in de regel weinig kans dat kleine verschillen tussen behandelingen betrouwbaar bevonden werden.

### LUPINEN

(Bijlage 1 en tabellen 1-5)

Er werden 16 proefvelden aangelegd. Eén veld werd opgegeven wegens te zware onkruidbezetting, een tweede veld mislukte op te zure nieuwe heideontginningsgrond en van een derde veld werden door omstandigheden alleen ruw-eiwitpercentages verkregen. Van het veld Beekbergen werd eerst loof en later zaad geoogst. Aldus waren er 14 verwerkbare groepen opbrengstgegevens, hetzij over zaad, hetzij over kg ruw eiwit of kg vers loof.

BIJLAGE 1. In acht gevallen was het gemiddelde effect van enting ten opzichte van niet geënt ( $\bar{e}-0$ ) positief, evenwel slechts in twee gevallen zwak significant ( $p < 0,10$ ) volgens de *t*-toets (Emmercompascuum en Veenhuizen 2). Ook de *F*-toets wees in deze twee gevallen op significante verschillen ( $p < 0,05$ ) tussen „objecten” of „entingen” (met niet geënt inbegrepen) gemiddeld over rassen. De *t*-toets voor ( $\bar{e}-0$ ) wees nog eenmaal significantie aan ( $p < 0,05$ ), zonder significantie evenwel van de *F*-toets voor „objecten”. (Beekbergen, zaad). Daarnaast waren er nog twee gevallen met significantie in de *F*-toets, maar vrijwel zonder verschil tussen het gemiddelde van entingen en niet geënt ( $\bar{e}-0$ ), dus ook zonder significantie in de *t*-toets hiervoor.

Driemaal wees de *F*-toets op significante interactie tussen rassen en entingen, zonder significantie voor „objecten” (entingen en niet geënt, gemiddeld over de rassen).

*Ruw-eiwitgehalte* (TABEL 4 en 5). In zes gevallen werd van het loof het ruw-eiwitpercentage in de droge stof bepaald. Naast een duidelijke ras- en veldinvloed was er geen duidelijke invloed van de bacteriestammen. In vier gevallen was het gemiddelde effect van enting ten opzichte van niet geënt ( $\bar{e}-0$ ) zwak positief, in slechts één geval zwak bevestigd door de *t*-toets ( $p < 0,10$ ) waarvoor ook de *F*-toets tussen „objecten” invloed aanwees ( $p < 0,10$ ). Daarnaast nog een geval zonder significantie in de *t*-toets voor ( $\bar{e}-0$ ), hoewel de *F*-toets wel significantie aanwees. Deze vier gevallen betroffen

velden op nieuwe magere gronden. Van de twee gevallen met een gemiddeld zwak negatieve invloed van entingen ten opzichte van ongeënt ( $\bar{e}=0$ ) werd er één bevestigd door de t-toets ( $p < 0,01$ ), terwijl ook de F-toets voor objecten reeds significantie ( $p < 0,10$ ) aangaf. In het tweede geval was bij de t- en de F-toets geen significantie. De voorkomende verschillen in de eiwitgehalten hebben de verhoudingen in de drogestof-opbrengsten niet noemenswaard veranderd bij omrekening tot ruw-eiwitopbrengsten.

### *Conclusies*

1. Een werkelijk bevredigend positief entingseffect is niet bereikt. Enkele positieve significante opbrengstverhogingen betroffen zeer lage en slechte zaadopbrengsten of de verschillen waren niet te rijmen in groter verband.
2. Voor lupinen nog nieuwe grond was geen waarborg voor resultaten.
3. Een entingseffect is aan het gewas nooit zichtbaar geweest.
4. Indien er sprake was van een redelijke groei, ongeacht enting, waren er ook bij „niet geënt” goede wortelknolletjes aanwezig. Bij een redelijke cultuurtoestand scheen enting ook op nieuwe grond overbodig te zijn.
5. De pH en onbekende bodemfactoren bij normale pH beslisten soms op een proefveld over de groei al of niet met aanwezigheid van knolletjes, ongeacht al of niet geënt.
6. Volgens de variantieanalyse moeten de entingen in een aantal gevallen aangeslagen zijn, evenwel ongeacht het opbrengstniveau bij niet enten. De concurrentie met de in de grond aanwezige stammen moet dus doorstaan zijn, maar de opbrengstverhogingen of -verlagen konden niet tot meer algemene conclusies leiden omtrent verschil tussen de stammen. Er was naar gestreefd om alleen met goede stammen uit de verzameling te werken.
7. Het ruweiwitgehalte van het loof werd in het algemeen slechts zwak beïnvloed zonder duidelijke lijn. Op nieuwe lichte grond was het gehalte wel iets hoger, slechts bij een der vier velden met significantie.
8. Een overheersend goede *Rhizobium*stam kon dus niet aangewezen worden, maar ook geen meer geslaagde combinaties van bacteriestam en lupineras. Het ras Weiko III vertoonde een tendens tot meer positieve reactie op enting, afgezien van de bacteriestam. (Dat goede stammen in het algemeen voor meerdere verwante rassen van een plantesoort goed werkzaam zijn is althans bij klaver en luzerne volgens ervaringen in Nederland en België wel aan te nemen).
9. Om nog eventuele risico's ten aanzien van wisselwerking tussen ras en stam en/of invloed van de grond te ondervangen lijkt enting met een mengsel van goede stammen gewenst.
10. Een omvangrijk onderzoek naar eventuele aanpassing van bacteriestam aan lupineras lijkt niet urgent. Voor meer fundamenteel onderzoek op het laboratorium levert lupine vele moeilijkheden op.
11. Op de zure veenontginningsgrond reageerde het loof goed op een stikstofgift, terwijl enting weinig of geen invloed had. In de oogst van het zaad was dit N-effect vrij onduidelijk (TABEL 3).

12. Voor proefveldonderzoek kan entingsonderzoek vrijwel niet los gezien worden van bemestingsproeven, daar vele factoren naast de stikstofvoeding eerst goede groei mogelijk moeten maken, wil de enting kunnen slagen, zo deze nog zin heeft (Zie 4). Vele andere problemen bij dit gewas blijven hier nog buiten beschouwing.
13. Aan ontsmetten van het zaad zal meestal de voorkeur gegeven moeten worden boven enten.

#### ERWTEN (Bijlage 2 en tabellen 6-11)

Er werden 12 proefvelden aangelegd. Van twee werden geen opbrengsten verkregen omdat het gewas verkommerde op een nieuwe poldergrond en op een zure veenontginningsgrond. De variantie-analyse (F-toets) wees bij acht van de tien geoogste velden op significante verschillen tussen „objecten” of „entingen”, niet geënt inbegrepen. Slechts bij vier van deze acht velden was het gemiddelde entingseffect positief en met significantie volgens de t-toets. Tweemaal betrof het hier velden op een kleigrond, waarbij de significantie zwak was. Vooronderzoek had hier echter aanwijzingen opgeleverd dat enting resultaat kon hebben. De andere twee gevallen betrof het zeer duidelijke resultaten op een nieuwe schrale veenontginningsgrond (Veenhuizen). Bij de overige zes proeven waarvan er vier dus nog significantie in de F-toets voor „objecten” of „entingen” hadden getoond, was het gemiddelde entingseffect ( $\bar{e}-0$ ) steeds negatief, waarvoor in twee gevallen volgens de t-toets nog significantie bereikt werd. Een eerste proef op de veenontginningsgrond mislukte, waarschijnlijk door te late bekalking en N-gebrek. Invloed van enting was evenwel duidelijk zichtbaar. Een tweede proef in '57 waarvoor vroeger bekalkt werd, slaagde beter. De verschillen tussen de stammen kwam goed uit en stemden overeen met de laboratoriumtoets. Een als ineffectief gekenmerkte stam werkte zelfs negatief. Een stikstofgift gaf ook nog bij enten goede resultaten. Bij een derde proef in 1958 werden op de ontginningsgrond weer goede resultaten behaald. Met dezelfde rangorde der stammen was het entingseffect nu toch minder.

*Ruw-eiwitgehalte* (TABEL 6, 7, 10 en 11). Bij zes proeven is het ruw-eiwitgehalte in de droge stof van het loof bepaald en bij één proef van het zaad. Zelfs de „ineffectieve” stam onderscheidde zich niet duidelijk van de andere stammen bij het ruw-eiwitgehalte. Gemiddeld over de „entingen” was er vrijwel steeds een negatieve tendenz ten opzichte van niet geënt, zowel gemiddeld over de velden per ras als per veld gemiddeld over de rassen. Significantie werd hiervoor niet bereikt. De ruw-eiwitpercentages hebben in de ruw-eiwitopbrengsten de onderlinge verhouding der behandelingen in de droge-stofopbrengsten niet van betekenis beïnvloed.

#### *Conclusies*

1. Duidelijk positief en ook zichtbaar resultaat van enting met verschillende stammen werd pas bereikt na beperking tot een erwteras en de aanleg van een proefveld op zeer schrale nieuwe veenontginningsgrond waar erwten toch nooit als eerste gewas verbouwd zullen worden.

2. Afgezien van het onder 1 gestelde was nieuwe grond voor erwten geen voorwaarde voor een slagen van enting.
3. Wederom afgezien van het onder 1 gestelde is een entingseffect aan het gewas nooit duidelijk zichtbaar geweest.
4. De algemene indruk is dat een betere cultuurtoestand al gauw ook zonder enten goede groei mogelijk maakt en enten dan weinig of geen resultaat heeft. Steeds werden ook bij niet enten goede wortelknolletjes aangetroffen (afgezien van 1).
5. Volgens de variantie-analyse (BIJLAGE 2) heeft enting vrij vaak gewerkt, hetzij negatief (1955, 1956 Kloosterburen 1 en 2), hetzij positief. De concurrentie met de in de grond aanwezige stammen moet dus geslaagd zijn. Bij opbrengstverlaging zouden de gebruikte stammen dan minder effectief geweest moeten zijn dan de „grondstam”.
6. Naast de algemene tendens tot lagere opbrengsten in 1955 door enting, was er de tendens van een Zweedse stam om de laagste opbrengsten te geven. In het vooronderzoek was deze matig effectief.
7. In 1955 was er geen overheersende goede stam aan te wijzen, noch per veld gemiddeld over de rassen of gemiddeld over de velden. Evenmin meer geslaagde combinaties van bacteriestam en erwteras. Dit ondanks de vrij grote verschillen tussen de erwterassen.
8. Gezien a. de tendens van het erwteras Big Ben tot een positieve reactie op enting, b. de tendens van de Zweedse stam S 313 om bij veldbonen beter uit te komen (zie 6), c. de positieve werking op kleigrond van een „ineffectieve” stam P 8, mag de mogelijkheid van invloed van ras en grond niet uitgeschakeld worden. Dit wijst naar het nut van enten met een mengsel van stammen.
9. De duidelijke verschillen tussen de werking der *Rhizobium*stammen op de schrale veenontginning (zie I) waren in overeenstemming met het vooronderzoek (TABEL 6 en WIERINGA, 1958). Een ineffectieve Finse stam P 8 gaf een duidelijke opbrengstverlaging. Aangezien niet geënte planten vrijwel geen knolletjes hadden is „ineffectief” en wellicht „parasitair” hier een verantwoorde term. Andere stammen gaven grote opbrengstverhogingen. De entstof voor de praktijk was weinig effectief.
10. Het ruw-eiwitgehalte in de droge stof van het loof of het zaad vertoonde gemiddeld steeds een zwak, niet significant lager gehalte dan niet geënt (TABEL 6, 7, 10 en 11).
11. Op arme grond kan een goede reactie op een stikstofgift optreden waarbij een duidelijk effect van enting aanwezig kan blijven (TABEL 6).
12. Ontsmetten of bescherming van het zaad blijft een dringende eis.

#### STAMBONEN (tabel 12)

Op een voor bonen nieuwe grindrijke zandgrond werden met twee proeven zeer bevredigende resultaten bereikt, nl. zeer significante positieve effecten van enting, met duidelijk onderscheid tussen de stammen. De praktijkentstof bleef achter. Het gewas profiteerde tevens duidelijk van een lichte stikstofgift. Een aanwijzing voor een sterkere reactie op stikstof bij niet geënt en de praktijkentstof dan bij de goede stammen werd in de tweede proef niet bevestigd.

Het percentage ruw eiwit in het zaad vertoonde in de eerste proef een grote mate van parallelliteit met de zaadopbrengst bij grote significantie voor de effecten van enting en stikstof. De interactie bereikte nu ook significantie. Hoewel in de tweede proef hiervoor weer significantie werd bereikt, was er geen overeenstemming met 1957 door negatieve reacties op N, juist bij niet geënt en de praktijkentstof.

### Conclusies

1. Het gewas was op een grindrijke, iets leemhoudende zandgrond dankbaar voor enting en stikstofbemesting.
2. Uit zeeklei geïsoleerde *Rhizobium* stammen waren beter dan de praktijkentstof en de uit het perceel geïsoleerde stam.
3. Van niet geënt zonder stikstof tot wel geënt met de beste stam en met stikstofgift kon een verbetering geven van grote praktische betekenis.
4. Zal men juist bij bonen en op deze grond gauw geneigd zijn tot flinke N-giften, dan kan door enting wellicht op de N-bemesting bespaard worden. Aangezien in de regel aan stambonen weinig knolletjes gevonden worden, het uit de literatuur bekend is dat de populatie van *Rhizobium phaseoli* meestal zwak is en gezien de praktijkgewoonte om stambonen juist wel een goede stikstofgift te geven, lijkt meer aandacht voor enting en voor de stammen van *Rhizobium phaseoli* bij dit gewas verantwoord, vooral op de voor stambonen minder goede gronden.

### OPMERKINGEN

- a. Gezien de vaak optredende negatieve tendens in de opbrengsten en ruw eiwitgehaltes door enten, moet bij het entingsonderzoek buiten het laboratorium het onderzoek omtrent de N-huishouding van bodem en plant nauw betrokken worden, waarbij de opbrengsten van het groene loof en het zaad bepaald moeten worden.
- b. In dit verband moet gewezen worden op de ook door andere onderzoekers aangetroffen opbrengstverlagingen (LAMBERTS, 1951; VERVELDE en WIERSMA, 1951).
- c. Naast de effectiviteit der stammen moet ook aan andere factoren gedacht worden die negatieve effecten ten opzichte van niet geënt kunnen veroorzaken.



## SUMMARY AND CONCLUSIONS

### INOCULATION OF YELLOW LUPINS (*Lup. luteus*), PEAS (*Pis. sativum*) AND FRENCH BEANS (*Phas. vulgaris*) WITH SOME *Rhizobium* STRAINS; FIELD EXPERIMENTS

Several varieties of *Lupinus luteus*, *Ornithopus sativus*, *Pisum sativum*, *Vicia faba* and one variety of *Phaseolus vulgaris* var. *nanus*, all of which were grown on soils which were generally new for the crop in question, were examined for their response to inoculation of the seed with several selected strains of *Rhizobium*.

Comparatively little research work has been done in the Netherlands on this subject with the use of these crops, so that this was a matter of exploratory research. This article deals with the field experiments only. Research on the selection of strains and the preparatory work was carried out at the Laboratory for Microbiology, Wageningen (WIERINGA and BAKHUIS).

Since the crops were known to be generally subject to numerous hazards and it was necessary to select mainly newly reclaimed soils, there was a considerable non-systematic dispersion of the yields, despite all the care bestowed on the experimental and technical side of the work and giving adequate  $P_2O_5$ ,  $K_2O$  and Mo. With large standard errors there was usually only a slight chance that small differences between treatments would be found significant.

#### LUPINS

(Appendix 1 and tables 1-5)

In the case of lupins 16 field trials were carried out. One was abandoned owing to heavy weed infestation, another failed on a recently reclaimed peat soil which was too acidic, of a third it was for some reason only possible to obtain the crude protein percentages of the foliage. But green foliage and seed were harvested on the Beekbergen '56 field. Hence there were 14 groups of data on yields of seed, fresh foliage or crude protein.

APPENDIX 1. In 8 cases the average effect of inoculation compared to no inoculation ( $\bar{e}-0$ ) was positive (col. 15), but only in 2 cases with slight significance ( $p < 0,10$ ) from Student's t-test (col. 16): Emmercompascuum and Veenhuizen 2. In these cases the F-test<sup>1</sup> (col. 12) also showed significant ( $p < 0,05$ ) influence of treatments or inoculations, the control being included (always averaged over varieties). The t-test for ( $\bar{e}-0$ ) (col. 16) only tended to indicate significance ( $p < 0,05$ ), but without significance of the F-test for treatments (Beekbergen seed). There were also two cases of significance with the F-test in the case of treatments but with hardly any difference in ( $\bar{e}-0$ ). On three occasions the F-test gave significance for the interaction between varieties and inoculations (col. 14). In this case there was no significance in the case of treatments.

<sup>1</sup> t-test relates to the difference ( $\bar{e}-0$ ) = average of inoculations in comparison with control.

F-test relates to differences between treatments = inoculations (strains), including control.

*Percentage of crude protein* (TABLES 4 and 5). In 6 cases the percentage of crude protein in the dry matter of the green foliage was determined. The variety and field had a distinct effect, but not the *Rhizobium* strain. In four cases the average effect of inoculation ( $\bar{e}-0$ ) was slightly positive, in one case only with some significance in the t-test and also in the F-test for treatments. There was also one case without significance in the t-test for ( $\bar{e}-0$ ) but with significance in the F-test in the case of treatments. These four fields were laid out on new, poor soils. Of the two cases in which inoculation had on the average a slightly negative effect ( $\bar{e}-0$ ), one was confirmed by the t-test:  $p < 0,01$ , with significance in the F-test for treatments also. In the second case no significance at all was obtained. Incidental higher percentages do not go with higher yields of crude protein. Hence the relationship between the differences in the crude protein yields is very similar to that existing between the dry matter yields.

### *Conclusions*

1. A really satisfactory positive effect of inoculation was not obtained. Some positive significant effects either related to very low and poor seed yields, or else the differences were not correlated in a wider context.
2. Soil which was new for lupins did not affect results.
3. Inoculations never had any clearly visible effect on the field.
4. When growth was fairly good with or without inoculation, there were good nodules.  
When the soil was fairly good inoculation seemed to be unnecessary, as was also the case on new soil.
5. Normal pH and unknown soil factors occasionally resulted in spots where the plants showed good growth and nodulation, whether there was inoculation or not.
6. According to the analysis of variance inoculation must have succeeded several times, irrespective of the yield level of treatments without inoculation. Hence the competition with the strain(s) in the soil must have been won, but no general conclusions on differences between strains could be drawn from the yield increases or reductions. It was intended to select only the better strains for the field experiments.
7. Usually there was only a slight effect on the percentage of crude protein in the dry matter of the foliage, without any clear trend. On new light soil there was a somewhat greater effect, but only to a significant degree in one of the four cases.
8. Consequently a dominant good strain could not be indicated, but neither could some better combinations of *Rhizobium* strain and lupin variety. Disregarding the *Rhizobium* strains, the Weiko III variety showed a tendency to a more positive response to inoculation.  
(To judge by experiences in the Netherlands and Belgium with clover and alfalfa it seems that in general the better strains are more effective for more varieties of one species).
9. However, to avoid any risk of possible interactions between variety and strain it seems desirable to inoculate with a mixture of several strains.
10. Extensive research on a possible special adaptation of particular *Rhizobium* strains to lupin varieties would not appear to be urgent. Moreover, lupins and *Rhi-*

zobium strains for lupins create great difficulties in more fundamental laboratory research.

11. On the acid, newly reclaimed peat soil there was a good visible response of the foliage to a light nitrogen dressing, but not to inoculation. In the seed yields the N-effect was not clear, (TABLE 3) and there was a possibility of interaction with inoculation.
12. Research on inoculation on new soils should be combined with fertilisation research, since apart from the nitrogen several factors have to ensure good growth before inoculation can have any result; but see 4.
13. Seed treatment (disinfectants and/or protectants) should usually be preferred to inoculation.

#### PEAS

(Appendix 2 and tables 6-11)

There were 12 field experiments. In two of these two the crop failed completely, viz. on a new Zuiderzee bottom clay soil and on an acidic recent peat reclamation soil. On 8 of the 10 harvested fields (green foliage or seed) the analysis of variance (F-test) indicated significant differences between inoculation treatments (including no inoculation) (APPENDIX 2 col. 12). When green foliage was harvested the analysis chiefly related to the kg yields of crude protein. Only on 4 of the 8 fields was the average effect of inoculation positive (col. 15) and with significance according to the t-test (col. 16). On two occasions it related to fields on an old arable marine clay soil with slight significance. Laboratory tests had indicated that inoculation with own strains could produce results in this instance. In the other two cases it related to very clear results on a recent peat reclamation soil (Veenhuizen). In the six remaining experiments, four of which showed significance in the F-test in the case of inoculation treatments (including the control), the main effect of inoculation ( $\bar{c}-0$ ) was negative, and in two instances with significance from the t-test.

In 1956 a first experiment on the peat soil failed, probably owing to late liming and N deficiency for the first development. However, the effect of inoculation was visible (FIG. 4). A second experiment in 1957 after liming in December 1956 was more successful. The differences between the strains were convincing and corresponded to the laboratory test (WIERINGA, 1958). A strain labelled ineffective gave a reduction in yield (TABLE 6). An N dressing gave good results, also with inoculation. These were the best results of all experiments. A third experiment on this soil in 1958 again gave good results. The range figures for the strains were the same, but the effect of inoculation was less.

*Percentage of crude protein* (TABLES 6, 7, 10 and 11). In six experiments the percentage of crude protein in the dry matter of the green foliage was determined, and that of the seed in one experiment. Even the „ineffective” strain did not stand out among the others as regards this percentage. The average of inoculations was nearly always negative averaged over the fields for varieties and averaged over varieties for the fields. But significance was never reached. The percentages of crude protein did not alter the relationship between the differences in the yields of dry matter when these were converted to crude protein yields.

### Conclusions

1. A good positive effect of inoculation with different strains, and one which was also visible, was only obtained on a poor recent peat reclamation soil using one variety. It should be stated that peas will never be the first crop on this soil.
2. Setting aside the foregoing conclusion, soil new to peas did not affect the results of inoculation.
3. Again setting aside conclusion no. 1, no effect of inoculation was ever clearly visible on the field.
4. The general impression is that a fairly good soil may result in fairly good growth without inoculation. In this case the result of inoculation will be doubtful. Usually there were good nodules in the experiments even without inoculation.
5. To judge from the analysis of variance (APPENDIX 2) inoculation frequently must have had effect, viz. either negative as in 1955, 1956 Kloosterburen 1 and 2, or else positive. Hence they must have won the competition with the *Rhizobium* strains in the soil. In case of yield reduction the strain employed must have been less effective than the strain obtained from the soil.
6. In addition to the general tendency to lower yields caused by inoculation in 1955, there was the tendency of a Swedish strain (S 313) to give the lowest yields. In the laboratory tests this strain was found to be moderately effective.
7. In 1955 no predominantly good strain was found for separate fields, averaged over varieties, or for the average of the fields. But better combinations of strain and variety were not found either despite the fairly significant differences in type and qualities of the pea varieties.
8. Taking into account a. the tendency of the Big Ben variety to show a more positive response to inoculation b. the tendency of the S 313 strain to be the best strain used in the only experiment with field beans and c. the positive effect on clay soil of the ineffective P8 strain, we should not exclude the possibility of influence of variety and type of soil. Inoculation with a mixture of strains may give a better chance of a good effect.
9. The distinct differences between the effect of the *Rhizobium* strains on the poor peat reclamation soil (see 1), agreed with the results of a laboratory experiment, (TABLE 6 and WIERINGA, 1958). A Finnish strain P8 labelled „ineffective” depressed the yield. As uninoculated plants had no nodules in this instance, the effect of the strain must have been parasitic. Other strains gave increased yields and were better than the inoculation material available to farmers.
10. The average percentage of crude protein in the dry matter of the foliage was always lower (not significant) in inoculation treatments as compared to non-inoculation treatments (TABLES 6, 7, 10 and 11).
11. On a poor soil a good response to a nitrogen dressing is possible even when there is a significant effect of inoculation. (TABLE <). See also point 12 under lupins.
12. Seed treatment of peas is more important than inoculation to an even greater extent than for lupins.

PHASEOLUS  
(Table 12)

On a stony sand soil which was new for French beans we obtained good results from the two experiments, viz. statistically very significant positive effects in the seed yields by inoculation, with a very distinct difference between the strains. The inoculation material meant for use by farmers (BLGr.) was less effective. The crop benefited by a light nitrogen dressing. An indication of a better response to nitrogen of uninoculated treatments and BLGr. than of treatments inoculated with good strains was not confirmed in the second experiment.

*Crude protein.* In the first experiment the difference in the percentages of crude protein of the seeds were closely parallel to the differences between the yields. The effects of inoculation and nitrogen were statistically very significant, and even the interaction reached significance. Although there was also significance in the second experiment, it was not in agreement with the first owing to the negative responses to N, especially in the case of „uninoculated” treatments and BLGr.

*Conclusions*

1. The crop benefited by inoculation and N fertilisation.
2. *Rhizobium* strains isolated from marine clay soils were better than the inoculation material used in practice and also better than a strain isolated from the field itself.
3. Comparing uninoculated treatments without nitrogen with inoculation with the best strain and with a nitrogen dressing, there is a considerable improvement in the yield.
4. Especially in the case of beans, and particularly on this type of soil, an obvious course would be to apply a higher N dressing. Usually a few nodules are formed on the roots of French beans. The literature shows that the population of *Rh. phaseoli* in the soil is usually very low. These facts, as well as the above results, may stimulate research on inoculation of Phaseolus beans, particularly on lighter and „new” soils and on the strains of *Rh. phaseoli*.

NOTE

As pointed out above, there was often a tendency to negative effects in yields and percentages of crude protein as a result of inoculation, and for irregularities in the response to a nitrogen dressing.

This phenomenon is also described in other publications (LAMBERTS, 1951; VERVELDE and WIERSMA, 1951). When performing inoculation experiments in the field it would therefore seem necessary to include the N economy of soil and plant in the investigation when calculating the yields of green foliage and of ripe seed. A further factor is the effect of the strains in the soil. Attention should be paid to other factors which may give negative effects.

## LITERATURE

- GEORLETTE, R.: Aperçu de travaux récents consacrés à la fixation symbiotique d'azote chez les légumineuses. *Ann. Gembl.* **59** (1953) 215-236.
- GERRETSEN, F. C.: Enkele nieuwe inzichten betreffende het enten van leguminosen. *Maandbl. Landbouwwerld.* **7** (1950) 1: 16-22.
- HALLSWORTH, E. G.: Nutrition of the legumes. Proceedings of the University of Nottingham. Fifth Easter School in Agricultural Science. 1958.
- HARMSEN, G. W.: Toepassing van enkele nieuwe theorieën op het enten van vlinderbloemige gewassen. *T.N.O. Nieuws.* **8** (1953) 83 (mrt) 89-94.
- : Pogingen tot verbetering van de entstof voor leguminosen. *Landbouwk. Tijdschr.* **66** (1954) 8 (aug.) 531-533.
- : Verbouw van lupinen op heideontginningen. *Landb. Voorl.* **15** (1958) 12 (dec.) 657.
- JOHNSON, M. D., and O. N. ALLEN: Nodulation studies with special reference to strains isolated from *Sesbania* species. *Anthonie van Leeuwenhoek.* **18** (1952) 1: 13-22.
- KLECZKOWSKA, J., P. S. NUTMAN and G. BOND: Note on the ability of certain strains of *Rhizobia* from peas and clover to infect each other's host plants. *Journ. Bact.* **44** (1944) 673-675.
- LAMBERTS, H.: Enting van gele voederlupine. *Landbouwk. Tijdschr.* **63** (1951) 3 (mrt) 187.
- en J. TOLNER: Gele Voederlupine, teelt, gebruik en veredeling van een voedergras. 1952.
- LÖHNIS, M. P.: Investigations upon the ineffectiveness of root nodules on leguminosae. *Centralblatt für Bakt. Abt II* **80**, 1930.
- MANIL, P., et C. BONNIER: Fixation symbiotique d'azote chez la luzerne (*Medicago sativa* L.). *Bull. Inst. Agron. et St. Rech. Gembl.* **17** (1949) 123-146; **18** (1950) 89-126; **19** (1951) 15-32.
- : Microbiologie et Agronomie. *Ann. de Gembl.* **59** (1953) 1: 14-29.
- MIYASAKA, S., and J. G. DA SILVA: A inoculacao de soja tratadas com arasan. *Bragantia.* **15** (1956) 23: 329-335.
- RUHLOFF, M., and J. C. BURTON: Compatibility of *Rhizobia* with seed protectants. *Soil Sci.* **72** (1951) 283-290.
- SCHREVEN, D. A.: Het een en ander over wortelknolletjes en de bereiding van vaste entstof voor leguminosen in ons land. *Bodem.* (Winternummer) 1954.
- THORNTON, H. G.: The symbiotic relationship between soil bacteria and higher plants, as exemplified by the leguminosae. *Transactions of the third Intern. Congress of Soil Science.* **2** (1935).
- : Effective and ineffective strains of legume nodule bacteria. *Nature.* **156** (1945) 654-655.
- : The nodule bacteria and their host legumes: some problems that they still present. *Science progress.* **166**, april 1954.
- VERVELDE, G. J., en J. H. WIERSMA: Enting met reine *Rhizobium*cultures. *Landbouwk. Tijdschr.* **63** (1951) 3 (mrt) 186.
- WIERINGA, K. T., and JANNY A. BAKHUIS: Chromatography as a means of selecting effective strains of *Rhizobia*. *Plant and Soil.* **VIII** (1957) 3 (mrt) 254-262.
- : Transport of amino acids in leguminous plants. Nutrition of the legumes. Londen 1958.

BIJLAGE 1 Lupinen (*Lupinus luteus*) geënt met enige stammen van *Rhizobium lupini*

Jaar <i>Year</i>	Proefveld <i>Exp. field</i>	Grondsoort <i>Soil type</i>	pH-H <sub>2</sub> O	Al eerder lupine <i>lupinus in former years</i>	Aantal - <i>number</i>			
					Rhiz. stammen + controle (0) - Rhiz. strains + control (0)	Lup. rassen <i>Lupin varieties</i>	m <sup>2</sup> per veldje <i>sq. m p. plot</i>	Herhalingen <i>Repetitions</i>
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
1954	Mantinge 1	Zandgr.heide-ontg. <sup>1</sup>	4,7	-	5	3	25	3
1954	Mantinge 2	Zandgr.heide-ontg. <sup>1</sup>	4,7	+	5	3	25	3
1954	Emmercompascum	Oude dalgrond <sup>2</sup>	5,2	-	5	3	25	3
1954	Wageningen-Hoog 1	Grindzandgr. <sup>3</sup>	5,6	+	5	3	30	3
1954	Venhorst	Zandgr.heide-ontg. <sup>1</sup>	5,6	-	5	3	30	3
1954	Beek	Löss <sup>4</sup>	6,8	-	5	3	30	3
1954	Wageningen-Hoog 2	Grindzandgr. <sup>3</sup>	5,6	+	5	5	5	1
1955	Haelen 1	Zandgr. oud bouw <sup>5</sup>	5,5	+	5	3	21	3
1955	Haelen 2	Zandgr. bosontg. <sup>6</sup>	4,9	-	4	1	18	3
1955	Wageningen-Dreyen	Esgrond <sup>5</sup>	5,6	+	5	3	21	3
1955	Stadskanaal	Oude dalgr. <sup>2</sup>	5,4	-	5	3	20	3
1956	Beekbergen	Grindzandgr. <sup>3</sup> bosontginning <sup>6</sup>	4,5	-	5	1	2,4	14
1956	Veenhuizen	Nieuwe veenontg.gr. <sup>7</sup>	4,7	-	5	1	2,4	32
1957	Veenhuizen 1	Nieuwe veenontg.gr. <sup>7</sup>	4,9	-	3	1	2,4	32
1957	Veenhuizen 2	Nieuwe veenontg.gr. <sup>7</sup>	4,4	-	3	1	2,4	32

<sup>1</sup> Sand, recent heath-reclamation soil.<sup>2</sup> Old peat-reclamation soil.<sup>3</sup> Gravelly sand (push moraine).<sup>4</sup> Loess.<sup>5</sup> Old arable sand soil.<sup>6</sup> Sand, recent forest-reclamation.<sup>7</sup> Recent peat-reclamation soil.<sup>8</sup> De helft van de herhalingen met een N gift - half of the replications with nitrogen supply.<sup>9</sup> % re: percentage ruw eiwit in de droge stof van groen geoogst loof - percentage of crude protein in dry matter of foliage harvested green.

## Variantie-analyse - analysis of variance

Betreffende Concerning	Standaardafwijking in % van het gem. s.e. in % of mean	F-toets Significantie voor - significance for			Student's t-toets voor gem. van geënt t.o.v. niet geënt ( $\bar{x}-0$ ) - average of inoculations ( $\bar{x}$ ) with regard to control (0)	
		Entingen, ook ongeënt (0) Inoculations, con- trol (0) included	Ras Variety	Entingen + ras Inoc. + variety	$\bar{x} > 0 - \bar{x} < 0$	Significantie Significance
(10)	(11)	(12) <sup>15</sup>	(13) <sup>15</sup>	(14) <sup>15</sup>	(15)	(16) <sup>15</sup>
re <sup>9</sup> <sup>10</sup>	11,5	□	-	-	>	□
re <sup>11</sup>	11,7	-	+++	+	<	-
re <sup>9</sup>	3,6	-	+++	++	>	-
adopbr. <sup>12</sup>	35,2	+	++	-	>	□
re <sup>11</sup>	13,3	-	+	-	>	-
re <sup>9</sup>	4,5	-	+++	-	<	-
re <sup>11</sup>	11,6	-	++	-	>	-
re <sup>9</sup>	7,5	-	++	-	>	-
re <sup>11</sup>	22,9	-	+	-	<	-
re <sup>9</sup>	7,2	□	++	-	<	□
een loof een foliage	78,0	-	++	-	>	-
adopbr. <sup>12</sup>	11,1	-	++	++	>	-
adopbr. <sup>12</sup>	5,7	+	.	.	2	-
adopbr. <sup>12</sup>	7,6	-	-	-	<	-
adopbr. <sup>12</sup>	11,1	-	-	-	<	-
re <sup>11</sup>	17,3	++	.	.	2	-
re <sup>9</sup>	5,8	□	.	.	>	-
adopbr. <sup>12</sup> <sup>13</sup>	41,0	-	.	.	>	+
— <sup>14</sup>	.	.	.	.	.	.
			N enting × N inoc. × N	-N + N	gem. average	
adopbr. <sup>12</sup>	46,5	-	- <sup>16</sup>	-	> > >	-
adopbr. <sup>12</sup>	31,8	+	- <sup>16</sup>	+	> < >	□

<sup>10</sup> Loofopbrengst kon niet bepaald worden - *yield of foliage was lost.*<sup>11</sup> r.e.: de opbrengst aan ruw eiwit in groen geoogst loof - *yield of crude protein in foliage harvested green.*<sup>12</sup> Seed yield.<sup>13</sup> Zeer lage zaadopbrengst - *very low seed yield.*<sup>14</sup> Mislukt gewas, geen oogst - *failure of the crop, not harvested.*<sup>15</sup>  $p < 0,001$  +++,  $p < 0,01$  ++,  $p < 0,05$  +,  $p < 0,10$  □<sup>16</sup> Op het veld in het loof een duidelijk positief N effect - *On the field clear positive reaction on nitrogen of the foliage.*



BIJLAGE 2 Erwten (*Pisum sativum*) geënt met *Rhizobium leguminosarum* (A) en stambonen (*Phaseolus vulgaris* var. *nanus*) met *Rhizobium phaseoli* (B)

Jaar Year	Proefveld Exp. field	Grondsoort Soil type	pH-H <sub>2</sub> O	Al eerder erwten (A) of stambonen (B) – peas (A) or french beans (B) in former years	Aantal – number			Herhalingen Replications
					Rhiz. stammen + controle (I) – Rhiz. strains + control (I)	Rassen Varieties	m <sup>2</sup> per veldje sq. m p. plot	
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
<b>A. Erwten (<i>Pis. sativum</i>) geënt met <i>Rhiz. leguminosarum</i> – peas inoculated with <i>Rhiz. leguminosarum</i></b>								
1955	Mantinge	Zandgr.heide-ontg. <sup>1</sup>	4,7	–	5	4	20	3
1955	Kruisland	Zavel <sup>2</sup>	7,5	+	5	4	18	3
1955	Wageningen	Komklei <sup>3</sup>	7,1	–	5	4	17	3
1955	Venhorst	Zandgr.heide-ontg. <sup>1</sup>	5,5	–	5	6	17	3
1955	N.O.P.	Klei <sup>4</sup>	.	–	5	4	20	3
1955	Wageningen ( <i>V. faba</i> )	Komklei <sup>3</sup>	7,1	–	4	5	17	3
1956	Kloosterburen 1	Lichte zeeklei <sup>5</sup>	7,8	+	5	1	2,4	34
1956	Kloosterburen 2	Lichte zeeklei <sup>5</sup>	7,9	+	5	1	2,4	34
1956	Veenhuizen	Nieuwe veenontg.gr. <sup>6</sup>	4,9	–	5	1	2,4	36
1957	Kloosterburen	Lichte zeeklei <sup>5</sup>	7,8	+	5	1	2,4	24
1957	Niekerk	Lichte zeeklei <sup>5</sup>	7,0	+	5	1	2,4	18
1957	Veenhuizen	Nwe veenontg.gr. <sup>6</sup>	4,8	–	5	1	2,4	8
1958	Veenhuizen	Nwe veenontg.gr. <sup>6</sup>	4,9	–	4	1	2,4	24
<b>B. Stambonen (<i>Phas. vulgaris</i> var. <i>nanus</i>) geënt met <i>Rhiz. phaseoli</i> – french beans inoculated with <i>Rhiz. phaseoli</i></b>								
1957	Wageningen	Grindzandgr. <sup>7</sup>	5,5	–	4	1	3,2	16
1958	Wageningen	Grindzandgr. <sup>7</sup>	5,5	–	4	1	3,2	16

<sup>1</sup> Sand, recent heath reclamation soil.

<sup>2</sup> Estuary silt soil  $\pm$  25% clay.

<sup>3</sup> River-basin clay  $\pm$  50% clay.

<sup>4</sup> Zuiderzee-bottom clay soil.

<sup>5</sup> Sandy sea clay  $\pm$  30% clay.

<sup>6</sup> Recent peat-reclamation soil.

<sup>7</sup> Gravelly sand.

<sup>8</sup> De helft van de herhalingen met een N gift – half of the replications with nitrogen supply.

<sup>9</sup> re: de opbrengst aan ruw eiwit in groen geoogst loof – yield of crude protein in foliage harvested green.

Variantie-analyse - analysis of variance						
Betreffende Concerning	Standaardafwijking in % van het gem. s.e. in % of mean	F-toets Significantie voor - significance for			Student's t-toets voor gem. van geënt t.o.v. niet geënt ( $\bar{x}-0$ ) - average of inoculations ( $\bar{x}$ ) with regard to control (0)	
		Entingen, ook congeënt (0) Inoculations, con- trol (0) included	Ras Variety	Entingen + ras Inoc. + variety	$\bar{x} > 0 - \bar{x} < 0$	Significantie Significance
(10)	(11)	(12) <sup>15</sup>	(13) <sup>15</sup>	(14) <sup>15</sup>	(15)	(16) <sup>15</sup>
re <sup>9</sup>	13,5	-	++	-	^	-
% re <sup>10</sup>	5,0	-	+++	-	^	-
re <sup>9</sup>	16,7	□	++	-	^	-
% re <sup>10</sup>	6,4	-	++	-	^	-
re <sup>9</sup>	23,3	□	++	-	^	+
% re <sup>10</sup>	10,5	+	-	-	^	-
zaadopbr. <sup>11</sup>	7,7	-	++	-	^	-
re <sup>9</sup> zaad - seed	11,5	-	+++	-	^	-
% re <sup>10</sup>	7,7	-	+++	-	^	-
. <sup>12</sup>	.	.	.	.	.	.
zaadopbr. <sup>11</sup>	22,0	-	++	-	^	-
re <sup>9</sup>	14,3	++	.	.	^	-
% re <sup>10</sup>	6,6	-	.	.	2	-
re <sup>9</sup>	16,6	++	.	.	^	++
% re <sup>10</sup>	7,1	-	.	.	^	-
. <sup>13</sup>	.	.	.	.	.	.
dr.st. loof <sup>14</sup>	14,9	□	.	.	>	□
dr.st. loof <sup>14</sup>	12,5	□	.	.	>	□
			N	enting × N inoc. × N	-N <sup>16</sup> + N <sup>16</sup> gem. <sup>16</sup> average <sup>16</sup>	
zaadopbr. <sup>11</sup>	57,0	+	++	-	> > >	++
re <sup>9</sup>	29,0	++	+	-	> > >	□
% re <sup>10</sup>	3,7	-	+	++	< > 2	.
			N	enting × N inoc. × N	-N + N gem. average	
zaadopbr. <sup>11</sup>	9,8	++	-	-	> > >	+
% re <sup>10</sup> zaad - seed	2,3	+++	++	+	> > >	++
zaadopbr. <sup>11</sup>	18,2	++	+	□	> > >	++
% re <sup>10</sup> zaad - seed	3,0	+	□	+	2 > >	□

<sup>10</sup> % re: % ruw eiwit in de droge stof van groen geoogst loof - % crude protein in dry matter of foliage harvested green.

<sup>11</sup> Seed yield.

<sup>12</sup> Mislukt gewas, niet geoogst - failure of the crop, not harvested.

<sup>13</sup> Gewas verkommerd, maar effect van enting was goed zichtbaar - the crop failed, but effect of inoculation was visible very well.

<sup>14</sup> dr.st. droge-stofopbrengst loof - dry matter yield of the foliage.

<sup>15</sup>  $p < 0,001$  +++,  $p < 0,01$  ++,  $p < 0,05$  +,  $p < 0,10$  □

<sup>16</sup> Voor de gemiddelden van enting is hier een ineffektieve stam niet meegerekend, Veenhuizen '57 en '58 - for Veenhuizen '57 and '58 an ineffective strain is excluded from the average of inoculations.